





# CONTRIBUTION A L'ETUDE DES INFECTIONS A *Anaplasma phagocytophilum* CHEZ LES RUMINANTS DOMESTIQUES

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2002  
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

*par*

**Sébastien, Patrice, Christian CHEVALIER**  
Né, le 11 juillet 1971 à CHARTRES (Eure-et-Loir)

---

**Directeur de thèse : M. Jean EUZEBY**

---

## JURY

PRESIDENT :  
**Mme Elisabeth ARLET-SUAU**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSEESSEUR :  
**M. Jean EUZEBY**  
**M. Stéphane BERTAGNOLI**

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE  
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE



MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PECHE  
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur	: M.	P. DESNOYERS
Directeurs honoraires.....	: M.	R. FLORIO
	M.	J. FERNEY
	M.	G. VAN HAVERBEKE
Professeurs honoraires.....	: M	A. BRIZARD
	M.	L. FALIU
	M.	C. LABIE
	M.	C. PAVAU
	M.	F. LESCURE
	M.	A. RICO
	M.	A. CAZIEUX
	Mme	V. BURGAT
	M.	D. GRIESS

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. CABANIE Paul, Histologie, Anatomie pathologique
- M. CHANTAL Jean, Pathologie infectieuse
- M. DARRE Roland, Productions animales
- M. DORCHIES Philippe, Parasitologie et Maladies Parasitaires
- M. GUELFY Jean-François, Pathologie médicale des Equidés et Carnivores

PROFESSEURS 1ère CLASSE

- M. AUTEFAGE André, Pathologie chirurgicale
- M. BODIN ROZAT DE MANDRES NEGRE Guy, Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie
- M. BRAUN Jean-Pierre, Physique et Chimie biologiques et médicales
- M. DELVERDIER Maxence, Histologie, Anatomie pathologique
- M. EECKHOUTTE Michel, Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale
- M. EUZEBY Jean, Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie
- M. FRANC Michel, Parasitologie et Maladies Parasitaires
- M. MARTINEAU Guy, Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour
- M. MILON Alain, Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie
- M. PETIT Claude, Pharmacie et Toxicologie
- M. REGNIER Alain, Physiopathologie oculaire
- M. SAUTET Jean, Anatomie
- M. TOUTAIN Pierre-Louis, Physiologie et Thérapeutique

PROFESSEURS 2e CLASSE

- Mme BENARD Geneviève, Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale
- M. BERTHELOT Xavier, Pathologie de la Reproduction
- M. CORPET Denis, Science de l'Aliment et Technologies dans les industries agro-alimentaires
- M. DUCOS DE LAHITTE Jacques, Parasitologie et Maladies parasitaires
- M. ENJALBERT Francis, Alimentation
- Mme KOLF-CLAUW Martine, Pharmacie -Toxicologie
- M. LEFEBVRE Hervé, Physiologie et Thérapeutique
- M. LIGNEREUX Yves, Anatomie
- M. PICAVET Dominique, Pathologie infectieuse
- M. SCHELCHER François, Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour

PROFESSEUR ASSOCIE

- M. HENROTEAUX Marc, Médecine des carnivores

INGENIEUR DE RECHERCHES

- M. TAMZALI Youssef, Clinique équine

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

Mme MICHAUD Françoise, Professeur d'Anglais  
M. SEVERAC Benoît, Professeur d'Anglais

MAITRE DE CONFERENCES HORS CLASSE

M. JOUGLAR Jean-Yves, Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour

MAITRES DE CONFERENCES 1ère CLASSE

M. ASIMUS Erik, Pathologie chirurgicale  
M. BERGONIER Dominique, Pathologie de la Reproduction  
M. BERTAGNOLI Stéphane, Pathologie infectieuse  
Mme BOUCRAUT-BARALON Corine, Pathologie infectieuse  
Mlle BOULLIER Séverine, Immunologie générale et médicale  
Mme BOURGES-ABELLA Nathalie, Histologie, Anatomie pathologique  
M. BOUSQUET-MELOU Alain, Physiologie et Thérapeutique  
Mme BRET-BENNIS Lydie, Physique et Chimie biologiques et médicales  
M. BRUGERE Hubert, Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale  
M. CONCORDET Didier, Mathématiques, Statistiques, Modélisation  
Mlle DIQUELOU Armelle, Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores  
M. DUCOS Alain, Zootechnie  
M. DOSSIN Olivier, Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores  
Mme GAYRARD-TROY Véronique, Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie  
M. GUERRE Philippe, Pharmacie et Toxicologie  
Mme HAGEN-PICARD Nicole, Pathologie de la Reproduction  
M. JACQUIET Philippe, Parasitologie et Maladies Parasitaires  
M. JAEG Jean-Philippe, Pharmacie et Toxicologie  
M. LYAZRHI Faouzi, Statistiques biologiques et Mathématiques  
M. MATHON Didier, Pathologie chirurgicale  
Mme MESSUD-PETIT Frédérique, Pathologie infectieuse  
Mme PRIYMENKO Nathalie, Alimentation  
Mme RAYMOND-LETRON Isabelle, Anatomie pathologique  
M. SANS Pierre, Productions animales  
Mlle TRUMEL Catherine, Pathologie médicale des Equidés et Carnivores  
M. VALARCHER Jean-François, Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour  
M. VERWAERDE Patrick, Anesthésie, Réanimation

MAITRES DE CONFERENCES 2e CLASSE

M. BAILLY Jean-Denis, Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale  
Mlle CADIERGUES Marie-Christine, Dermatologie  
Mme CAMUS-BOUCLAINVILLE Christelle, Biologie cellulaire et moléculaire  
Mme COLLARD-MEYNAUD Patricia, Pathologie chirurgicale  
M. FOUCRAS Gilles, Pathologie du Bétail  
M. GUERIN Jean-Luc, Productions animales  
M. MARENDAS Marc, Pathologie de la Reproduction  
M. MEYER Gilles, Pathologie des ruminants

MAITRES DE CONFERENCES CONTRACTUELS

M. DESMAIZIERES Louis-Marie, Clinique équine  
M. REYNOLDS Brice, Pathologie chirurgicale

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

Mme MEYNADIER-TROEGELER Annabelle, Alimentation  
M. MOGICATO Giovanni, Anatomie, Imagerie médicale  
M. MONNEREAU Laurent, Anatomie, Embryologie

**A Madame le Professeur Elisabeth ARLET-SUAU**

Professeur des Universités

Praticien hospitalier

Médecine interne

qui nous a fait l'honneur d'accepter  
la présidence de notre jury de thèse.

**A Monsieur le Professeur Jean EUZEBY**

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie générale — Microbiologie-Immunologie

qui nous a guidé dans l'élaboration de ce travail.

**A Monsieur le Docteur Stéphane BERTAGNOLI**

Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie infectieuse

qui nous a fait l'honneur de participer  
à notre jury de thèse.





A mes parents et mes deux soeurs.

A Sylvie qui porte notre fils.

A tous mes amis.

A Bernard, informaticien de génie.



# SOMMAIRE

## INTRODUCTION

### I. ETIOLOGIE

#### A. TAXONOMIE

1. Historique
2. Classification moderne
3. Classification actuelle

#### B. COLORATION

#### C. MORPHOLOGIE ET CYCLE DE DEVELOPPEMENT

1. Morphologie
  - a. Microscopie optique
  - b. Microscopie électronique
2. Cycle de développement

#### D. CULTURE

#### E. ANTIGENICITE – VIRULENCE

1. Virulence
2. Antigénicité

### II. EPIDEMIOLOGIE

#### A. DESCRIPTIVE

1. Population affectée
2. Répartition dans l'espace
  - a. Internationale
  - b. Locale
3. Répartition dans le temps
4. Caractères épidémiologiques de la maladie

#### B. ANALYTIQUE

1. Source du parasite
  - a. Le vecteur
    - Biologie
    - Ecologie et cartographie
    - Isolement d'*A. phagocytophilum* chez *Ixodes ricinus*
  - b. Réservoir

- c. Hôtes et autres sources
- 2. Modes de transmission
  - a. Naturelle
  - b. Expérimentale et iatrogène
- 3. Résistance du parasite
  - a. Chez le vecteur
  - b. Chez l'hôte
- 4. Facteurs de réceptivité
  - a. Intrinsèques
  - b. Extrinsèques

### III. ETUDE CLINIQUE ET LESIONNELLE

#### A. INCUBATION

#### B. PHASE AIGUE

- 1. Signes cliniques
  - a. Hyperthermie
  - b. Signes locomoteurs
  - c. Signes digestifs
  - d. Signes respiratoires
  - e. Production laitière
  - f. Mortalité
- 2. Signes hématologiques
  - a. Lymphocytopénie
  - b. Neutropénie
  - c. Eosinopénie
  - d. Monocytose
- 3. Signes biochimiques et métaboliques
  - a. Zinc
  - b. Fer
  - c. Bilirubine totale
  - d. Urée
  - e. Créatinine
  - f. Albumine
- 4. Lésions
  - a. Macroscopiques
    - Pulmonaires
    - Hépatiques
    - Cardiaques
    - Système lymphoréticulaire

- b. Lésions histopathologiques
  - Pulmonaires
  - Lymphatiques
  - Spléniques
  - Hépatiques
  - Rénales

#### C. PHASE SUBAIGUE ET COMPLICATIONS

- 1. Signes cliniques
  - a. Dus à *A. phagocytophilum*
  - b. Complications
    - Pyohémie à tiques
    - Infection « louping-ill »
    - Infections respiratoires
    - Avortements et mortinatalité
- 2. Hématologie
- 3. Biochimie

#### D. PHASE CHRONIQUE

### IV. PATHOGENIE ET IMMUNITE

#### A. INFECTION

- 1. Tropisme et contamination cellulaire
- 2. Mode de survie intracellulaire
- 3. Propagation bactérienne
- 4. Conséquences

#### B. IMMUNOSUPPRESSION

#### C. PORTAGE CHRONIQUE ET IMMUNITE

### V. DIAGNOSTIC

#### A. EPIDEMIOLOGIE

- 1. Zone géographique et climatique
- 2. Période de l'année
- 3. Activité de la tique *Ixodes ricinus*
- 4. Mode d'élevage
- 5. Caractère enzootique

## B. CLINIQUE

1. Phase aiguë
2. Phase chronique

## C. DIAGNOSTIC DE LABORATOIRE

1. Numération - formule sanguine
2. Recherche du parasite
3. Sérologie
  - a. Fixation du complément
  - b. Contre-immunoélectrophorèse
  - c. Immunofluorescence indirecte
4. Amplification génétique en chaîne (PCR : Polymérase Chain Reaction)

## D. DIAGNOSTIC NECROPSIQUE

1. Macroscopique
2. Histopathologique
3. Bactériologique

## E. DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL

1. Maladies transmises par les tiques
2. Affections respiratoires et avortements

# VI. PRONOSTIC – TRAITEMENT

## A. PRONOSTIC

1. Clinique
  - a. Stade biologique
  - b. Statut immunitaire et immunodépression
  - c. Conditions d'élevage
2. Epidémiologique
3. Economique

## B. TRAITEMENT

1. Spécifique
  - a. Sensibilité in vitro
  - b. Antimicrobiens utilisables
    - Sulfonamides
    - Oxytétracycline
    - Autres antibiotiques
2. Adjuvant

## VII. PROPHYLAXIE

### A. SANITAIRE

1. Lutte contre le vecteur
  - a. Lutte biologique et zootechnique
  - b. Lutte clinique
2. Lutte contre le réservoir

### B. MEDICALE

1. Antibiotiques
2. Vaccin

## CONCLUSION

## INTRODUCTION

Les bactéries du genre *Anaplasma* font partie des germes ayant suscité un intérêt scientifique récent. Leurs appartenances phylogéniques ont beaucoup évolué et évoluent encore.

Elles parasitent les cellules sanguines de nombreuses espèces animales et de l'homme. Leur capacité à franchir les barrières d'espèces complique leur étude et a bien souvent retardé leur identification.

*Anaplasma phagocytophilum* (*Ehrlichia phagocytophila*) fait partie des membres de la famille sur lesquels planent encore de nombreuses inconnues.

Notre synthèse bibliographique a clairement pour objet de se limiter à la description de l'infection à *Anaplasma phagocytophilum* biovar *Phagocytophilum* chez les ruminants domestiques en Europe.

L'étude sera menée sans références systématiques aux espèces, les syndromes produits par la bactérie étant globalement identiques.

Nous aborderons la taxonomie et la description de la bactérie pour suivre par son rôle pathogène, nous achèverons le sujet par les moyens de diagnostic et de lutte.



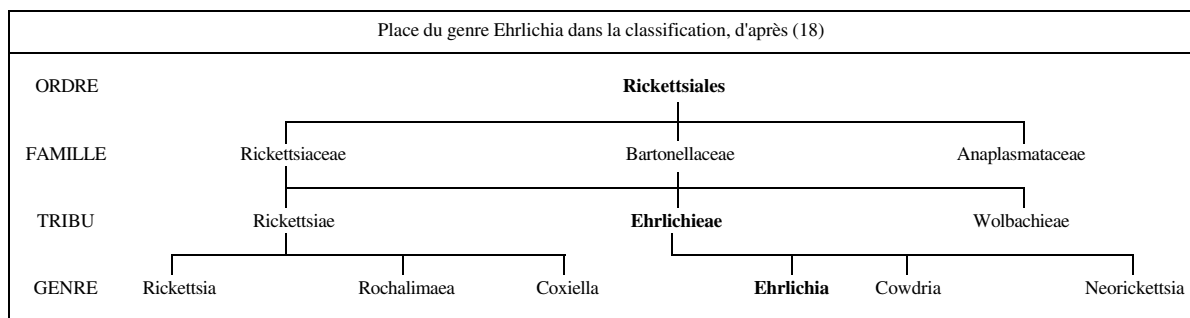
# I. ETIOLOGIE

## A. TAXONOMIE

### 1. Historique

Le genre *Ehrlichia* fut baptisé ainsi en 1945 en l'honneur de Paul EHRLICH (57), mais sa découverte eu lieu chez le chien par Donatien et Lestoquard dès 1935 (23) et par Gordon *et coll.* en 1932 (38).

Le genre *Ehrlichia* fut placé, ainsi que deux autres genres : *Cowdria* et *Neorickettsia* au sein de la tribu des *Ehrlichieae*, de la famille des *Rickettsiaceae* et de l'ordre des *Rickettsiales* (77).



Cette classification est fondée sur :

- \* les caractéristiques pathogéniques de ces bactéries (du genre *Ehrlichia*) qui sont intracellulaires strictes et qui ont un tropisme particulier pour les éléments figurés du sang mais jamais pour les érythrocytes (23),
- \* les caractéristiques morphologiques des *Ehrlichia* qui sont gram négatives(12),
- \* les caractéristiques épidémiologiques car toutes sont transmises par les tiques.

### 2. Classification moderne

Elle se fonde sur l'analyse des séquences des gènes codant pour l'A.R.N. 16S ribosomal qui place le germe au sein du groupe alpha des protobactéries (53).

Trois groupes génomiques ont ainsi pu être constitués:

- le groupe I comprend : *E. canis* et *E. chaffeensis* ;
- le groupe II comprend : *E.pagocytophila*, *E. equi* et l'agent de l'Ehrlichiose Granulocytaire Humaine (HGE , Human Granulocytic Ehrlichiosis) ;
- le groupe III rassemble : *E. risticii* et *E. sennetsu* (57).

Ces études génomiques bouleversent la taxonomie des Rickettsies en montrant que la tribu des Ehrlichieae n'appartient plus à la famille des Rickettsiaceae.

Caractéristique des Ehrlichia recensés en 1997						
Géno-groupe	Espèce	Hôte naturel	Symptomatologie	Cellules cibles in vivo	Vecteur	Distribution géographique
1	E sennetsu	Homme	Fièvre glandulaire	Monocytes-Macrophages	Helminthes ?	Japon
	Agent SF	métacercarie du parasite <i>Stellanthasmus falcatus</i>	Fièvre chez le chien et adénopathie chez la souris	Cellules mononuclées	<i>Stellanthasmus falcatus</i> (helminthes)	Japon
	N helminthoea	Chiens et canidés	salmon poisoning, syndrome hémorragique	Macrophages	N salmincola (helminthes)	Californie, Orégon, Idaho Washington
	E risticii	Cheval	Ehrlichiose équine monocytique ou Potomac horse fever	Monocytes-Macrophages, Cellules épithéliales intestin	Helminthes ?	Etats-Unis et Europe
2	Wolbachia	Insectes	Incompatibilité fertile Parthénogenèse	?	Culex pipiens (moustique)	?
3	C ruminantium	Chèvres, moutons, bétail	Péricardite	Cellules endothéliales	Amblyomma spp	Afrique et Caraïbes
	E canis	Chiens	Ehrlichiose canine ou Pancytopenie canine tropicale	Monocytes-Macrophages	Rhipicephalus sanguineus	Ubiquitaire
	E ewingii	Chiens	Ehrlichiose canine granulocytaire	Granulocytes	?	Etats-Unis
	Ehrlichiose humaine du Venezuela	Homme	Asymptomatique	Monocytes	?	Vénézuéla
	E chaffeensis	Homme	Ehrlichiose humaine américaine	Monocytes-Macrophages	Amblyomma spp	Etats-Unis
	WSU86-1044	Bétail	?	?	?	Washington
	E muris	Souris	?	Monocytes	?	Japon
4	Anaplasma	Bovins, ovins, caprins	Anémie hémolytique	Erythrocytes	D andersonii	Sud europe, Afrique, Amérique, Asie et ex-URSS
	Ehrlichiose granulocytaire humaine	Moutons, chevaux, chiens, cerfs	Ehrlichiose granulocytaire humaine	Granulocytes	Ixodes ricinus Ixodes scapularis	Etats-Unis et Europe
	E phagocytophila	Bétail	Tick-borne fever	Granulocytes	Ixodes ricinus	Royaume-Uni, Europe
	E equi	Cheval	Ehrlichiose équine	Granulocytes	Ixodes spp?	Etats-Unis et Europe
	E platys	Chiens	Thrombocytopénie cyclique canine	Plaquettes	?	Etats-Unis
non groupé	E bovis et ovina	Moutons, bétail	Ehrlichioses bovines et ovines	Monocytes-Macrophages	Hyalomma spp	Moyen-Orient, Afrique Sri Lanka
	E ondiri	Moutons, bétail	Fièvre pétéchiale bovine ou Ondiri disease	Granulocytes	?	Kenya

Les barrières d'espèces ont été revues mais les trois groupes génomiques restent cohérents pour ce qui est de la spécificité d'hôte, des cibles cellulaires ainsi que pour les caractéristiques morphologiques et antigéniques (53).

### 3. Classification actuelle

Les dernières études génétiques ont à nouveau réorganisé l'ordre des *Rickettsiales*. En effet, l'examen des gènes des opérons *groESL* et de ceux codant pour des protéines de surface a montré que les espèces *Ehrlichia phagocytophila*, *Ehrlichia equi* et l'agent de l'ehrlichiose granulocytaire humaine n'avaient plus leur place au sein du genre *Ehrlichia* mais devaient être placées dans le genre *Anaplasma*.

Ces études, menées par Dumler *et coll.* en novembre 2001, établissent que les trois espèces citées n'en forment, en réalité, qu'une et sont des variants de celle-ci. *Ehrlichia phagocytophila* devient donc *Anaplasma phagocytophilum* biovar Phagocytophilum, *Ehrlichia equi* devient *Anaplasma phagocytophilum* biovar Equi et l'agent de l'ehrlichiose granulocytaire humaine devient *Anaplasma phagocytophilum* biovar E.G.H.

D'une manière plus large, Dumler *et coll.* ainsi que la dernière édition du Bergey's Manual of Systematic Bacteriology ne reconnaissent plus la notion de tribu. A la différence du Bergey's Manual qui prend en compte la famille des *Ehrlichieaceae* (dans laquelle il place les genres *Ehrlichia*, *Anaplasma* et *Neorickettsia*), Dumler *et coll.* ne reconnaissent pas cette famille et placent les trois genres dans la famille des *Anaplasmataceae*.

Notre étude s'intéresse au biovar Phagocytophilum d'*Anaplasma phagocytophilum* (*A. phagocytophilum*) et nous utiliserons donc cette dénomination sans le biovar.

## **B. COLORATION**

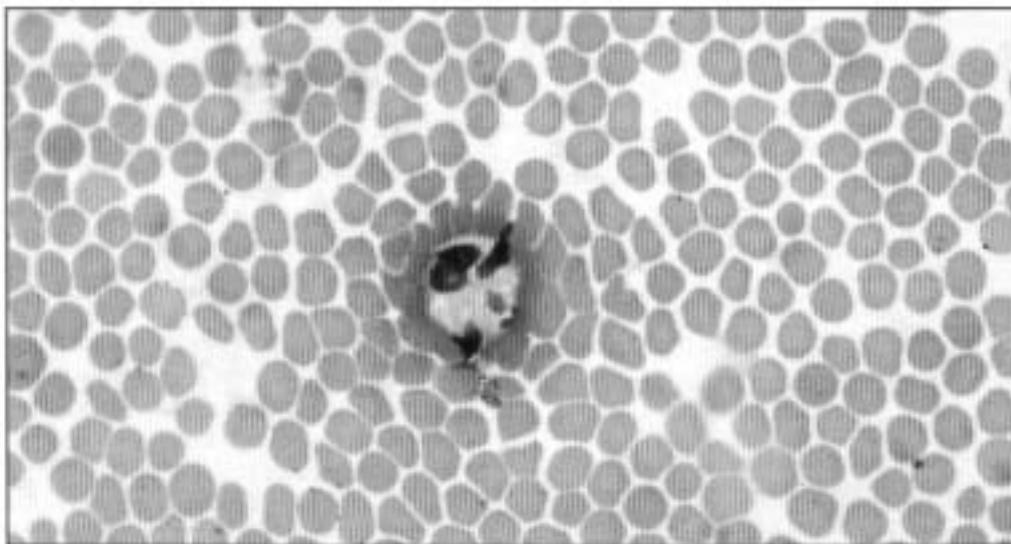
Les bactéries du genre *Anaplasma* sont de petites bactéries qui ne se colorent pas lors de la méthode de Gram (recolorées en rose par la fushine) (23). Elles se colorent en pourpre avec la coloration de May-Grünwald Giemsa ou le Diff-Quick<sup>ND</sup> (83). Elles apparaissent donc comme de petites inclusions basophiles (bleu foncé) dans le cytoplasme des cellules cibles.

## **C. MORPHOLOGIE ET CYCLE DE DEVELOPPEMENT**

### **1. Morphologie**

#### **a. Microscopie optique**

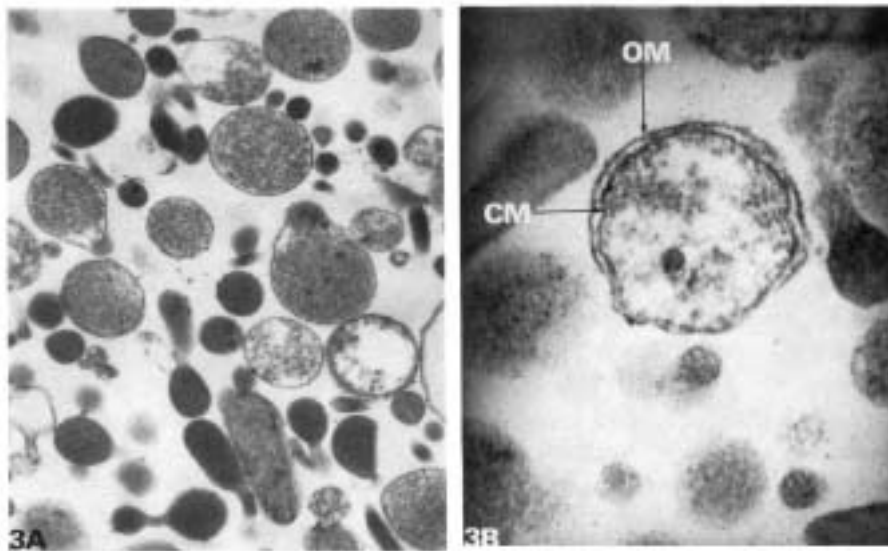
*Anaplasma phagocytophilum* se présente sous trois formes principales dans les granulocytes et les monocytes (23). Les corps élémentaires (0.5 µm de diamètre) les corps initiaux et les morulas (4 µm) qui se trouvent dans le cytoplasme des cellules cibles et sont entourés d'une vacuole dont la membrane provient en partie de la cellule hôte.



Leucocyte parasité par *Anaplasma phagocytophilum* sur un étalement coloré par la méthode de Giroux, d'après (44).

## b. Microscopie électronique

L'étude ultrastructurale de *A. phagocytophilum* montre qu'il existe une vacuole clairement distincte de la cellule hôte entourant les différentes formes de la bactérie. Les morulas apparaissent comme des agrégats de corps élémentaires (20 à 40), limités par une double membrane externe et interne et possédant ribosomes et A.D.N. (23). La microscopie électronique indique aussi l'existence de formes intermédiaires mal définies et de formes dégénérées de la bactérie.



- (A) Coupes minces de structures rickettsiales purifiées à partir de plasma de moutons infectés par *A. phagocytophilum* (x 30 000).  
(B) Coupes minces d' *A. phagocytophilum* montrant la membrane cellulaire (CM) et la membrane externe (OM) (x 75 000), d'après (109).

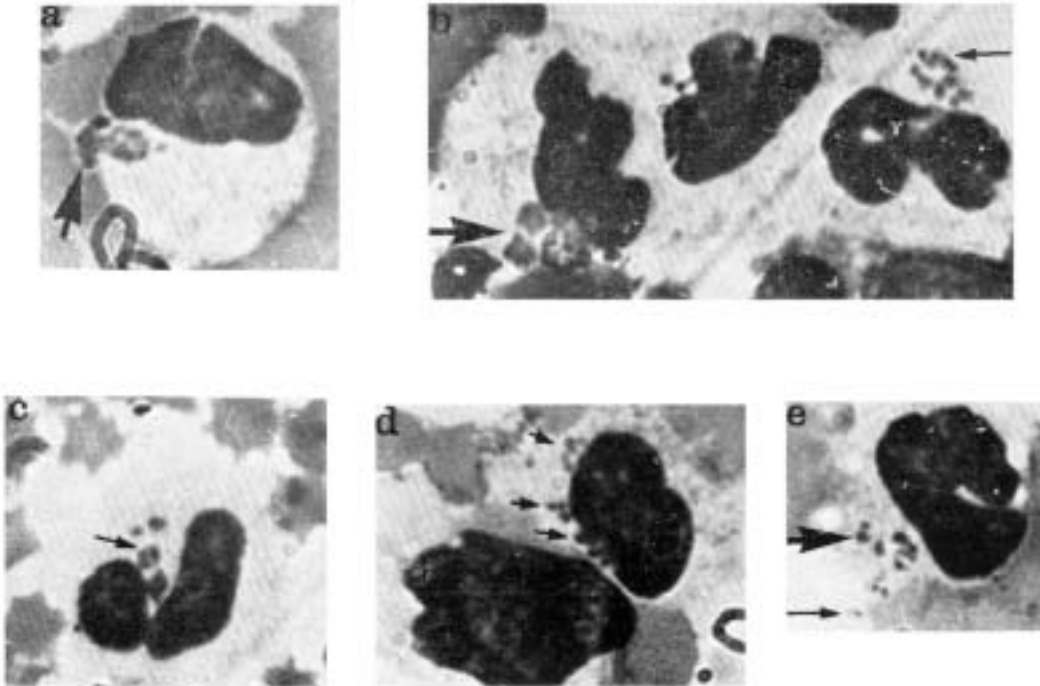
Au sein d'une même cellule hôte, il est possible d'observer la présence d'inclusions à différents stades dont des cellules en division binaire (112)



Organismes rickettsia-like de  $2,1 \times 1,1 \mu\text{m}$  et  $1,0 \times 1,7 \mu\text{m}$  et organisme unique de  $3,9 \times 1,1 \mu\text{m}$  en division, colorés avec de l'acétate d'uranyl. Echantillons provenant de glandes salivaires de tiques, microscopie électronique, d'après (98).

## 2. Cycle de développement

Le pléomorphisme d'*A. phagocytophilum* poussa de nombreux auteurs (Foggie, 1951 - Gordon, Brownlee, Wilson et MacLeod, 1962) à considérer qu'elle avait un cycle de développement semblable aux bactéries du genre *Chlamydia*. Ainsi, les corps élémentaires se développent en corps plus denses et plus gros : les corps initiaux, qui se regroupent ensuite au sein du phagosome en morula. Néanmoins, aucun cycle de développement définitif n'a pu être établi.



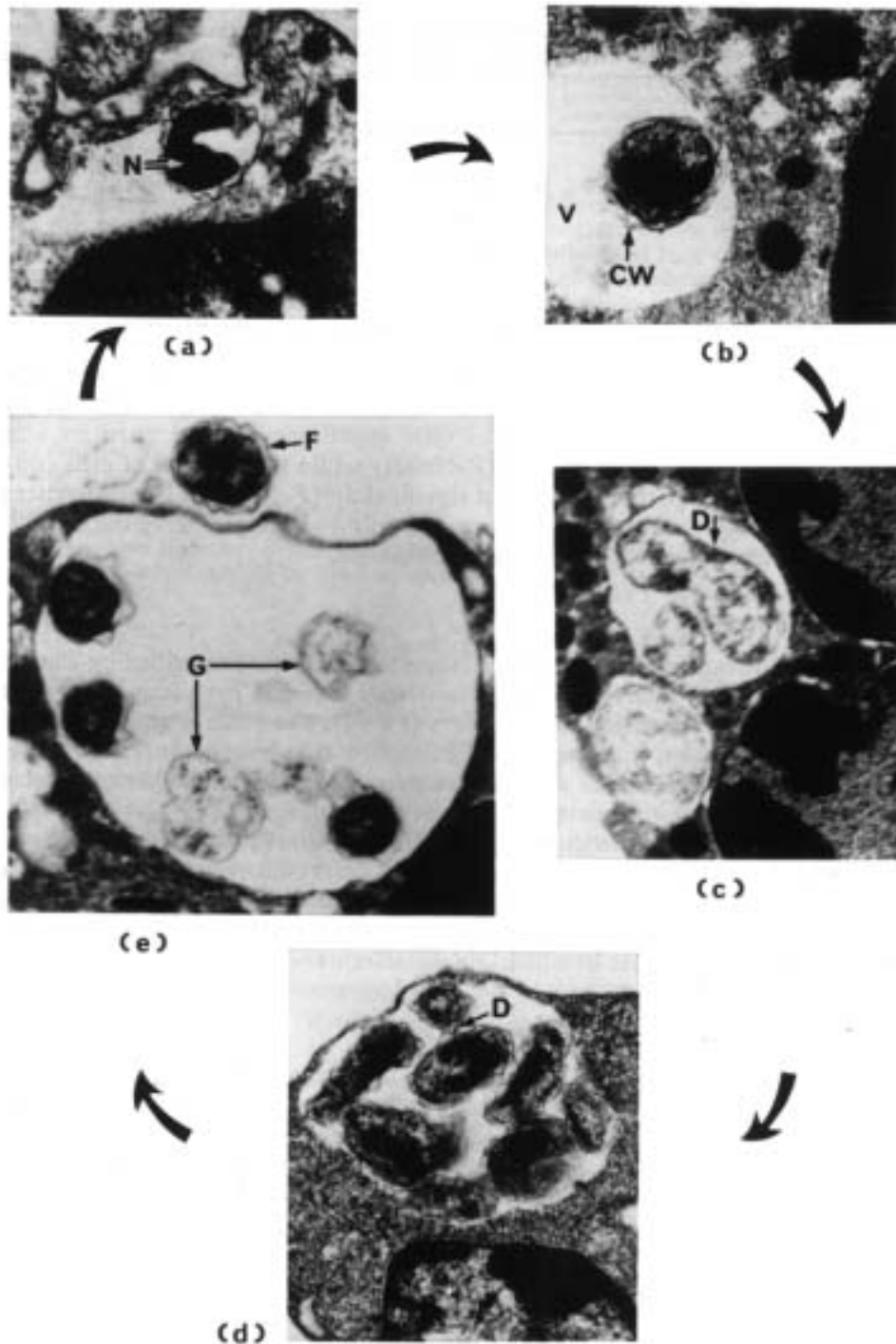
Inclusions intracytoplasmiques d'*A. phagocytophilum* dans du sang de bovins.

Degrés de pléomorphisme, d'après (20).

- (a) Neutrophile avec large inclusion granulaire intracytoplasmique entrant (ou quittant) la cellule.
- (b) Neutrophiles. La cellule de gauche contient quatre grandes inclusions granulaires intracytoplasmiques. La cellule de droite contient un amas de six inclusions ovides.
- (c) Neutrophile avec quatre inclusions ovides.
- (d) Neutrophile contenant au moins douze inclusions ovides. La grande cellule est un monocyte.
- (e) Neutrophile contenant six inclusions. Une structure est en position extracellulaire.

Des études plus récentes (105) effectuées *in vitro* sur des granulocytes et monocytes de moutons, établissent que le pourcentage de cellules contenant des corps élémentaires est très élevé (77.5 %) et celui de cellules contenant des morulas beaucoup plus bas ( 7.5 %) en début d'infection. Les pourcentages s'inversent après 24 heures de culture et celui de morulas observé ne cesse de s'accroître pendant la période de parasitémie.

Ces études suggèrent donc qu'en l'absence de renouvellement cellulaire, existant *in vitro*, on observe que le développement d'*A. phagocytophilum* serait assez simple. Les corps élémentaires sont les éléments de départ de l'infection et les morulas sont le résultat des divisions par fission binaire au sein des vacuoles (105).



Propositions d'étapes de développement: (a)>(b)>(c)>(d)>(e)>(a).

M.E. x 20 000, d'après (105).

(a) Petite particule unique avec un noyau distinct (N).

(b) Particule unique dans une vacuole développée (V).

Le noyau est encore distinct mais pas détaché. La particule est entourée par une paroi cellulaire distincte formée de deux membranes.

(c) Cellule avec deux vacuoles. Une vacuole contient deux particules dont une est en division par fission binaire (D).

(d) Cellule avec une vacuole cytoplasmique contenant des amas de particules.

On remarque un organisme dont la division s'achève (D).

(e) Large vacuole contenant trois petites particules et deux structures "fantômes" (G).

Une petite particule est libre à l'extérieure de la vacuole (F).



## D. CULTURE

*A. phagocytophilum* est un parasite intracellulaire stricte. Les tentatives de culture sur milieux inertes ou sur œufs embryonnés ont échoué (112). Néanmoins, les deux autres biovars de l'espèce ont pu être cultivés sur lignées cellulaires HL 60 (lignée de promyélocytes leucémiques humains). *A. phagocytophilum* biovar Equi se développe également sur culture de cellules de tiques, sur des granulocytes obtenus à partir de sang contaminé, en utilisant des cultures de sang total ou des leucocytes du sang périphérique séparés des autres composants (Woldehiwet, non publié). Malgré ces progrès, la principale source d'*A. phagocytophilum* reste les moutons infectés.

## E. VIRULENCE - ANTIGENICITE

Différentes souches d'*A. phagocytophilum* ont été isolées et décrites. Hudson fut le premier, en 1950, à noter la présence de différentes souches chez la vache. Les études suivantes rapportèrent des variations dans l'importance des syndromes et dans les caractéristiques antigéniques des souches.

### 1. Virulence

Outre une description générale de l'ehrlichiose chez les ruminants, se manifestant par un syndrome « pseudogrippal », les auteurs rapportent des cas beaucoup plus graves. Rapidement, ces cas cliniques ont été reliés à l'existence de souches très virulentes (64). La virulence de ces souches est avant tout liée à la spécificité d'espèce. Les essais de transmission ovins-bovins (Foggie, 1951) ont montré que certaines souches ovines ne reproduisaient pas de syndrome chez les bovins (112), mais surtout que les souches bovines manifestaient chez des ovins une virulence très atténuée (27).

Au sein d'une même espèce, les différences de virulence des souches se manifestent lors de réinfestations. Certaines souches proches procurent une immunité croisée importante alors que des réinfections par des souches très hétérologues se traduisent par une absence de protection (31).

Foggie, en 1960, rapprocha ces différences de virulence de la répartition géographique de la bactérie, les souches d'une même région montrant une virulence analogue (27).

L'étude de la virulence des souches reste compliquée par le caractère le plus souvent bénin de l'anaplasmose granulocytaire et par le rôle majeur des surinfections dans l'aggravation du tableau clinique (110).

### 2. Antigénicité

La composition antigénique d'*A. phagocytophilum* est encore inconnue. On sait, en revanche, que les différences antigéniques sont très nettes entre les génogroupes. Ainsi les réactions croisées entre *A. phagocytophilum*, *A. phagocytophilum* biovar Equi et l'agent de

l'EGH (Ehrlichiose Granulocytaire Humaine) sont très marquées (13). Elles expliquent la possible utilisation comme antigène d'une autre espèce du même génogroupe lors de tests immunologiques.

La différenciation antigénique des souches d'*A. phagocytophilum* reste plus obscure et se traduit essentiellement par la détection d'anticorps communs qui sera abordée plus loin (112).

## **II. EPIDEMIOLOGIE**

### **A. DESCRIPTIVE**

#### **1. Population affectée**

*A. phagocytophilum* est l'agent d'une fièvre des pâtures ou « fièvre à tiques » (tick-borne fever) chez les ovins, les bovins, les caprins et les autres cervidés (13). La transmission de la maladie s'effectuant essentiellement par les tiques, les animaux concernés sont ceux qui pâturent (82). Les jeunes individus sont sensibles dès les premières semaines de vie (87)(89) et les adultes restent cibles en l'absence d'immunité protectrice (cf.infra). Il faut noter que l'isolement du parasite a eu lieu chez de nombreuses espèces sauvages tels que le cerf Élaphe, le daim et le chevreuil (110).

#### **2. Répartition dans l'espace**

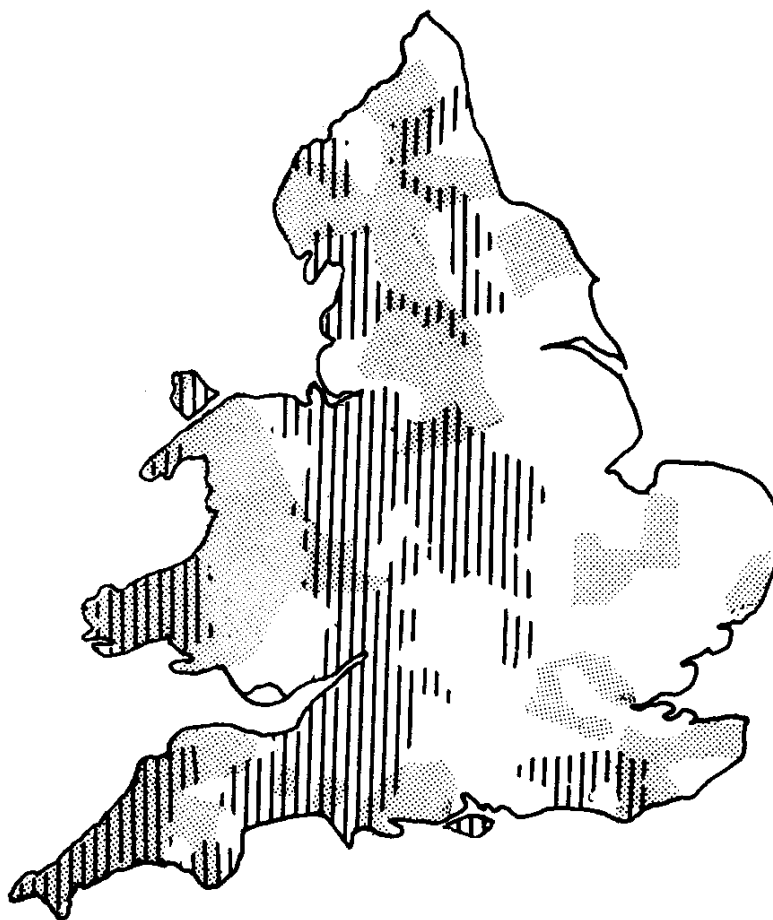
##### **a. Internationale**

La fièvre à tiques est présente dans de nombreux pays européens, dans les zones tempérées. Elle fut découverte en Écosse, puis décrite dans d'autres parties de Grande-Bretagne (Hudson, 1950). La maladie fut ensuite décrite en Norvège (Overas, 1959), en Hollande (Boal et Reinders, 1964), en Finlande (Tusmi, 1966), en Irlande (Collins *et coll.*, 1970) et en Autriche (Hinaidy, 1973). En France, quelques cas ont été récemment décrits (4)(44).

##### **b. Locale**

Les zones d'endémie sont directement en relation avec l'habitat du vecteur, *Ixodes ricinus*. Ce sont donc les zones tempérées et boisées qui sont les plus favorables, d'autant plus si elle sont à forte hygrométrie et à pH neutre (34). Les études menées dans les pays où la maladie montre une forte prévalence décrivent une répartition très large des cas liés à la présence d'*Ixodes ricinus* (ex. ci-dessous en Angleterre).





Distribution relative des bovins et des tiques en Angleterre et au Pays de Gales.

Les parties grises indiquent les limites de distribution des tiques.

Les parties hachurées indiquent les régions à forte densité de bovins,  
d'après (96).

La prévalence géographique de l'anaplasmose granulocytaire des ruminants n'est pas établie en France, le nombre de cas décrits étant minime ; néanmoins, la maladie semble largement sous-diagnostiquée (44). La répartition, quant à elle, de l'espèce de tiques vectrice est mieux connue et très vaste, puisque seules les régions d'altitude (>1000 m) et le pourtour méditerranéen (Provence, Languedoc, Roussillon) en sont dépourvus. *Ixodes ricinus* est particulièrement présente dans l'Ouest de la France (Bretagne, Normandie ) (34).

### 3. Répartition dans le temps

L'incubation de la maladie étant courte, les cas cliniques apparaissent pendant la saison de pâture, en relation avec l'activité saisonnière des tiques. Une prévalence maximale est rencontrée d'avril à octobre (34). En fonction de la zone climatique, on note des pics de transmission de printemps et d'automne si le climat est plutôt continental, alors que la transmission peut rester élevée en été si le climat est océanique (températures maximales modérées) (26) (71)(103).

#### 4. Caractères épidémiologiques de la maladie

L'anaplasmose granulocytaire des ruminants en Europe est une maladie non contagieuse, transmissible par la tique *Ixodes ricinus* (2)(8)(18). Elle évolue de manière endémique (66) et saisonnière. *A. phagocytophilum* est un parasite des ruminants domestiques et sauvages sous les climats tempérés.

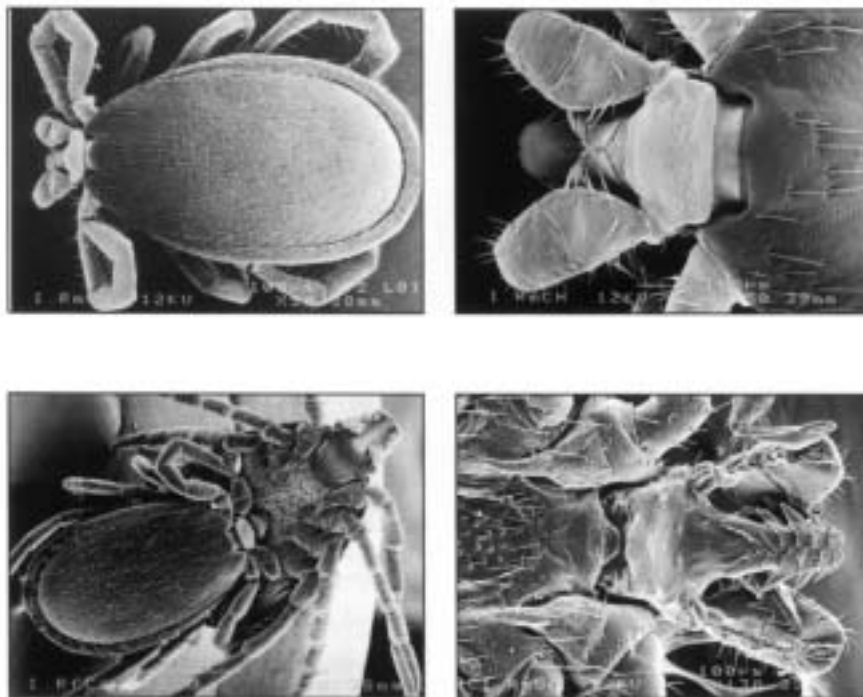
### B. ANALYTIQUE

#### 1. Sources du parasite

Le cycle de la maladie est trixène, composé de son vecteur, son réservoir et son hôte définitif. Chacun d'eux peut être source du parasite.

##### a. Le vecteur

MacLeod et Gordon ont établi en 1933 que le vecteur d'*A. phagocytophilum* était la tique *Ixodes ricinus*, un acarien de la famille des Ixodidés.



Vecteurs actifs supposés des tiques (*I. ricinus*): mâle (vue dorsale), capitulum et palpes (vue dorsale), copulation, rostre et palpes semi-écartés, d'après (44).

## Biologie

La tique *Ixodes ricinus* est une espèce exophile qui attend son hôte dans la végétation, avec cependant des séjours réguliers dans la litière végétale. C'est une espèce ubiquiste qui montre malgré tout un tropisme pour les mammifères de grande taille au stade adulte (dite télotige) (34).

## Écologie et cartographie

La tique étant avant tout une espèce forestière, ce sont les prairies proches de ce milieu qui en sont la meilleure source. La technique du « drapeau » mise au point par Human *et coll.* en 1968, permet une estimation précise des lieux d'élection de la tique. Néanmoins, cette technique ne permet une évaluation que sur des périmètres restreints et une cartographie nationale des populations de tiques reste difficile à mettre en œuvre (34). Comme décrit précédemment, la tique *Ixodes ricinus* est une espèce largement répandue en Europe (par exemple, présente en France sur 95 % du territoire (34)).

## Isolement d'*A. phagocytophilum* chez *Ixodes ricinus*

Les Ixodidés connaissent trois stades (ou stases) au cours de leur développement, les faisant passer de larve à nymphe puis adulte. Dans cette famille, les repas sont uniques à chaque stade (61). L'isolement d'*A. phagocytophilum* a eu lieu aux stades de nymphe et d'adulte, mais jamais au stade larvaire en l'absence de repas sanguin. Cela semble montrer l'absence de transmission transovarienne du parasite chez *Ixodes ricinus*. En revanche, la présence d'*A. phagocytophilum* chez des adultes à jeun prouve une transmission trans-stadiale (98).

Les méthodes de détection sont fondées sur les mêmes techniques applicables à la recherche chez les ruminants. Nous détaillerons ces méthodes lors du diagnostic de laboratoire.

La première méthode consiste à laisser des tiques potentiellement infectées effectuer un repas complet sur des chèvres naïves. Le suivi clinique des chèvres postinoculation permet de mettre en évidence la maladie (2).

La seconde est la coloration par la méthode de Feulger des glandes salivaires et l'examen direct au microscope optique (2)(98). On peut également mettre en évidence *A. phagocytophilum* dans les glandes salivaires par immunofluorescence indirecte (2), par microscopie électronique (98) et enfin par Polymerase Chain Reaction (8)(18)(69)(73). La P.C.R. est la méthode la plus sensible et la plus spécifique, mais aussi la plus coûteuse et la plus lourde.

Grâce à ces méthodes on obtient une prévalence d'*A. phagocytophilum* très variable en fonction des études, des régions, des origines et méthodes de collecte.

## **b. Réservoir**

L'isolement du parasite chez de nombreuses espèces de ruminants sauvages tendrait à montrer leur rôle dans le maintien de l'endémie (54)(32). Néanmoins, un véritable rôle de

réservoir reste à mettre en évidence, à commencer par la preuve d'un portage chronique du parasite et par la capacité de ces animaux à transmettre *A. phagocytophilum* à des tiques moins infectées (112)(103).

Le seul animal qui peut être qualifié de réservoir « compétent » est la chèvre (qui est également hôte) car son statut de porteur chronique est bien connu et beaucoup plus long que celui de la vache (57).

### **c. Hôte et autres sources**

La chèvre est à la fois hôte et réservoir du parasite puisque le portage chronique peut durer plusieurs mois (jusqu'à deux ans ) (57). D'autre part, des sources naturelles du parasite n'ont pas été étudiées, en particulier le rôle des rongeurs sauvages. La présence d'anaplasmose granulocytaire à *A. phagocytophilum*, dans des zones où la tique *I. ricinus* n'a pas été retrouvée, suggère également l'existence d'autres vecteurs (autres arthropodes) (112).

## **2. Transmission**

### **a. Naturelle**

La transmission d'*A. phagocytophilum* s'effectue par la tique *I. ricinus*, lors de son repas sur l'hôte. La transmission étant uniquement trans-stadiale, seuls la nymphe et l'adulte peuvent contaminer les ruminants après s'être, eux-mêmes, infectés sur un animal porteur (2).

*I. ricinus* effectue des repas de longue durée, qui comportent plusieurs phases. *A. phagocytophilum* se trouve dans les glandes salivaires. Or, l'injection de salive ne s'effectue qu'à partir du 3ème ou 4ème jour (afin d'éviter la coagulation du sang). Il est donc nécessaire, pour qu'il y ait transmission du parasite, que la tique reste implantée sur l'hôte plus de 3 jours (84).

### **b. Expérimentale et iatrogène**

L'infection expérimentale des ruminants par injection intraveineuse de sang total contaminé (souche d'*A. phagocytophilum* stabilisée au diméthylsulphoxide-DMSO ) reproduit systématiquement la maladie (14). La transmission est donc très efficace et la quantité de sang nécessaire est faible (3 ml). En revanche, les essais de transmission aux animaux de laboratoire restent infructueux (112).

La transmission iatrogène du parasite est possible lors de transfusion sanguine à partir d'animaux parasitiques (82).

### **3. Résistance du parasite**

#### **a. Chez le vecteur**

Le développement et la croissance d'*A. phagocytophilum* n'ont pas été étudiés. Néanmoins, les larves infectées peuvent transmettre le germe aux stases de nymphe et d'adulte (53). Cette transmission trans-stadiale impose une grande résistance du parasite chez la tique (57). Les prélèvements montrent que *A. phagocytophilum* est retrouvée dans de nombreux tissus d'*I. ricinus* (2)(8).

#### **b. Chez l'hôte**

La résistance du parasite chez l'hôte est très variable en fonction de l'espèce. Elle n'a pas été étudiée chez les ruminants sauvages. L'espèce chez laquelle elle est la mieux connue est le mouton. Après infection, le mouton reste porteur durant une période de 35 jours à 2 ans (57)(90). La persistance du parasite est nettement plus courte chez les bovins (80), avec une détection des organismes durant 18 à 32 jours après infection, d'après Brun-Hansen (14). Les explications avancées quant à la résistance d'*A. phagocytophilum* tiennent à sa capacité d'inhibition de la fusion phagosome-lysosome (111). Néanmoins, les données sont très ponctuelles. La persistance du parasite dans les autres tissus que le sang n'a pas encore été étudiée (111).

### **4. Facteurs de réceptivité**

#### **a. Intrinsèques**

Les observations faites en Grande-Bretagne montrent que la probabilité pour que des ovins, introduits sur des pâtures contaminées par des tiques, soient infectés est de 100 % (57).

L'anaplasmose granulocytaire concerne le bétail quelque soit son âge et son sexe. Pour nuance, Stuen (87) infecta expérimentalement des agneaux et obtint une réaction moins marquée chez les très jeunes (2 semaines) que chez les plus âgés (6 semaines), impliquant une possible protection des anticorps colostraux chez les premiers (89). Brodie avait montré, quant à lui, en 1985, une résistance induite chez des agneaux par hyperimmunisation des brebis.

#### **b. Extrinsèques**

L'essentiel des facteurs de réceptivité est extrinsèque, constitué par l'environnement des animaux, et par conséquent, le stress. L'anaplasmose granulocytaire peut s'exprimer de manière beaucoup plus marquée et même être, à elle seule, cause de mortalité chez des animaux vivant dans un environnement difficile (froid, vent, humidité) (11).

### **III. ETUDE CLINIQUE ET LESIONNELLE**

#### **A. INCUBATION**

L'incubation de l'anaplasmose granulocytaire est variable en fonction des espèces ainsi que de la souche bactérienne (14). La période d'incubation est définie comme étant comprise entre l'inoculation du parasite et le premier jour d'hyperthermie. Les données historiques sur l'incubation, chez les ovins et caprins, étaient d'environ une semaine, mais cette durée s'entendait lors d'inoculation naturelle par les tiques, avec une transmission d'*A. phagocytophilum* ne débutant que 3 à 4 jours après le début du repas de la tique (65). Les données expérimentales (après injection de sang contaminé) sont de 2 à 4 jours (14).

Chez les bovins, la durée de l'incubation est de 4 à 7 jours (14).

La détection des inclusions au sein des granulocytes varie, suivant les auteurs, de 2 à 7 jours, après l'inoculation (14)(57)(53).

#### **B. PHASE AIGUE**

##### **1. Signes cliniques**

L'anaplasmose granulocytaire se manifeste comme un syndrome « grippal ». Il n'existe pas de signe pathognomonique, le diagnostic de certitude ne pourra donc s'établir qu'en laboratoire.

Le tableau clinique de phase aiguë se compose des signes qui suivent.

##### **a. Hyperthermie**

C'est un signe constant. L'augmentation de la température corporelle est, en général, très nette avec plus de 40°C.

La durée de cette fièvre est de 2-4 jours à une semaine.

##### **b. Signes locomoteurs**

Les animaux atteints sont apathiques et refusent de se déplacer. Un œdème des parties déclives est souvent décrit et certains auteurs le tiennent pour caractéristique (96). Malgré tout, cet œdème est inconstant (15).

##### **c. Signes digestifs**

Les animaux manifestent une très forte baisse d'appétit. Ce signe est marqué chez les

jeunes qui cessent totalement de téter.

Chez les animaux adultes, la rumination n'est pas systématiquement atteinte (16). Malgré tout, une baisse du rythme des contractions ruminales est fréquent.

#### **d. Signes respiratoires**

Une légère augmentation de la fréquence respiratoire peut être présente, ainsi qu'une augmentation des bruits pulmonaires (14).

On peut parfois noter, également, un jetage séreux et une toux, mais ces signes restent discrets (4).

#### **e. Production laitière**

Avec l'hyperthermie, la chute de production laitière est souvent le signe le plus net. Les femelles en lactation peuvent voir leur production chuter de plus de 50 % (112).

#### **f. Mortalité**

Les rares cas de mortalité, directement attribués à *A. phagocytophilum* ont été décrits chez de jeunes agneaux et chevreaux. Les animaux cessent de s'alimenter et de se déplacer, la maladie prenant alors une allure septicémique (11).

*A. phagocytophilum* est à l'origine d'un syndrome plus grave chez les ovins et caprins que chez les bovins.

### **2. Signes hématologiques**

L'anaplasmose granulocytaire est toujours accompagnée de perturbations hématologiques importantes. Les modifications sont directement liées à l'infestation des cellules sanguines par le parasite. Elles concernent donc, dans le cas d'*A. phagocytophilum*, avant tout les polynucléaires mais aussi, dans une moindre mesure, les lymphocytes et les monocytes (112).

La population thrombocytaire peut également être atteinte (6). Toutes ces lignées cellulaires sont profondément perturbées durant l'évolution de la maladie. La modification de la formule sanguine consiste essentiellement en une forte leucopénie, à laquelle contribuent de manière différente les types cellulaires.

#### **a. Lymphocytopénie**

Elle est la première à apparaître. La baisse du nombre de lymphocytes circulant est la plus nette dans le sang périphérique.

Batungbacal et Scott étudièrent chez des moutons l'évolution des populations de lym-

phocytes B et T, après inoculation d'*A. phagocytophilum* (5). Ils utilisèrent des immunoglobulines de surfaces (sIg+) et une agglutinine (PNA : peanut agglutinin) pour détecter respectivement les lymphocytes B et T dans le sang périphérique et obtinrent les résultats ci-dessous:

MOYENNE DES LYMPHOCYTES sIg+ et PNA+ DE HUIT MOUTONS AVANT ET APRES INOCULATION AVEC E. PHAGOCYTOPHILA			
Jours après inoculation	Total lymphocytes (x 10 <sup>9</sup> per litre)	sIg <sup>+</sup> lymphocytes (x 10 <sup>9</sup> per litre)	PNA <sup>+</sup> lymphocytes (x 10 <sup>9</sup> per litre)
0	14.4±3.8	1.6±0.3	6.3±2.1
7	7.4±3.9	0.6±0.4	4.2±2.5
14	11.6±2.2	2.2±0.7	6.1±1.1
21	14.7±1.4	3.4±1.3	7.4±1.7

La chute significative concerne les lymphocytes B circulants qui sont les principaux responsables de cette lymphopénie.

Le plus bas taux de lymphocytes B est atteint environ 7 jours après inoculation puis remonte à un niveau normal à 14 jours (entre 13 et 16) pour, par la suite, dépasser ce niveau. Cette augmentation indique un développement probable d'une immunité humorale.

Woldehiwet étudia en 1991 (101), l'évolution des sous-populations lymphocytaires, grâce à l'emploi d'anticorps monoclonaux. Il montra, chez des moutons, que les lymphocytes B et T étaient atteints et que cette atteinte était transitoire (retour à la normale 14 jours après inoculation).

Les auteurs décrivent, pour certains, une lymphocytose dans les premiers jours suivant l'inoculation, en particulier, lors d'infection expérimentale (6)(20)(51).

## **b. Neutropénie**

La chute du nombre de polynucléaires neutrophiles suit rapidement la chute des lymphocytes. Elle est plus profonde et beaucoup plus durable que la lymphopénie. En période de parasitémie, une très large majorité des neutrophiles peut être contaminée par *A. phagocytophilum* (10). La destruction de ces granulocytes pourrait expliquer, en partie, cette neutropénie. Le nombre de PNN peut mettre plusieurs semaines à retrouver un niveau normal et cette chute, pour les conséquences immunitaires qu'elle induit chez l'animal atteint, est le fait essentiel de la maladie (51).

## **c. Eosinopénie**

L'éosinopénie est également due à une colonisation par le parasite, mais les auteurs notent qu'elle est moins marquée car ces cellules sont moins touchées par *A. phagocytophilum*. Elle intervient en même temps que la neutropénie et semble durable (14)(111).

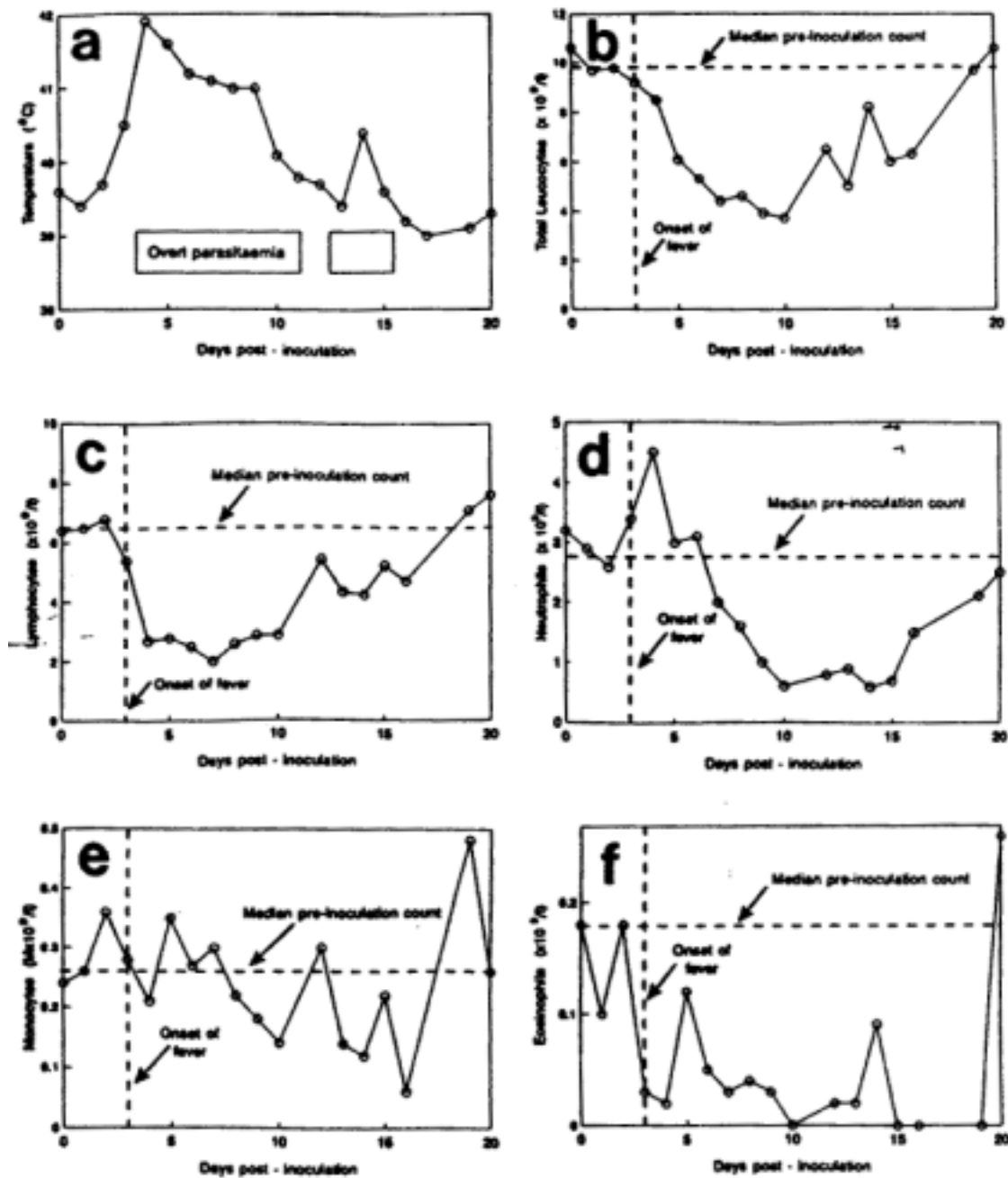


#### **d. Monocytose**

Après les éosinophiles et les neutrophiles, les monocytes sont les dernières cellules à être atteintes par le parasite (57). La contamination est beaucoup moins importante au sein de cette population cellulaire.

Les auteurs rapportent l'apparition d'une monocytose après la période fébrile. Cette monocytose s'explique probablement par une augmentation de la production par la moelle osseuse, en réponse à un besoin de phagocytose (14).

L'anaplasiose granulocytaire provoque également une chute de l'hématocrite modérée et une thrombocytopénie de courte durée, ce qui peut expliquer les pétéchies observées chez certains malades (20).



Moyenne et erreur standard sur la moyenne de l'activité de la phosphatase alcaline (ALP) et de la concentration en zinc, fer et bilirubine totale dans le sang périphérique de huit chèvres et huit moutons après infection expérimentale par *A. phagocytophilum*, d'après (37).

### 3. Signes biochimiques et métaboliques

Les données concernant les modifications biochimiques sanguines de l'anaplasmose granulocytaire sont peu nombreuses. Gokce et Woldehiwet, en 1999 (37), étudiaient l'effet d'*A. phagocytophilum* sur la biochimie clinique de moutons et chèvres après inoculation expérimentale. Le résultat essentiel est que l'on retrouve une baisse d'activité de la phosphatase alcaline sérique et une diminution des concentrations en zinc et fer plasmatiques, au même

titre que lors d'entérotoxémies causées par d'autres bactéries gram négatives. Les concentrations sanguines en bilirubine totale, en urée, créatinine et albumine sont également modifiées.

**a. Zinc**

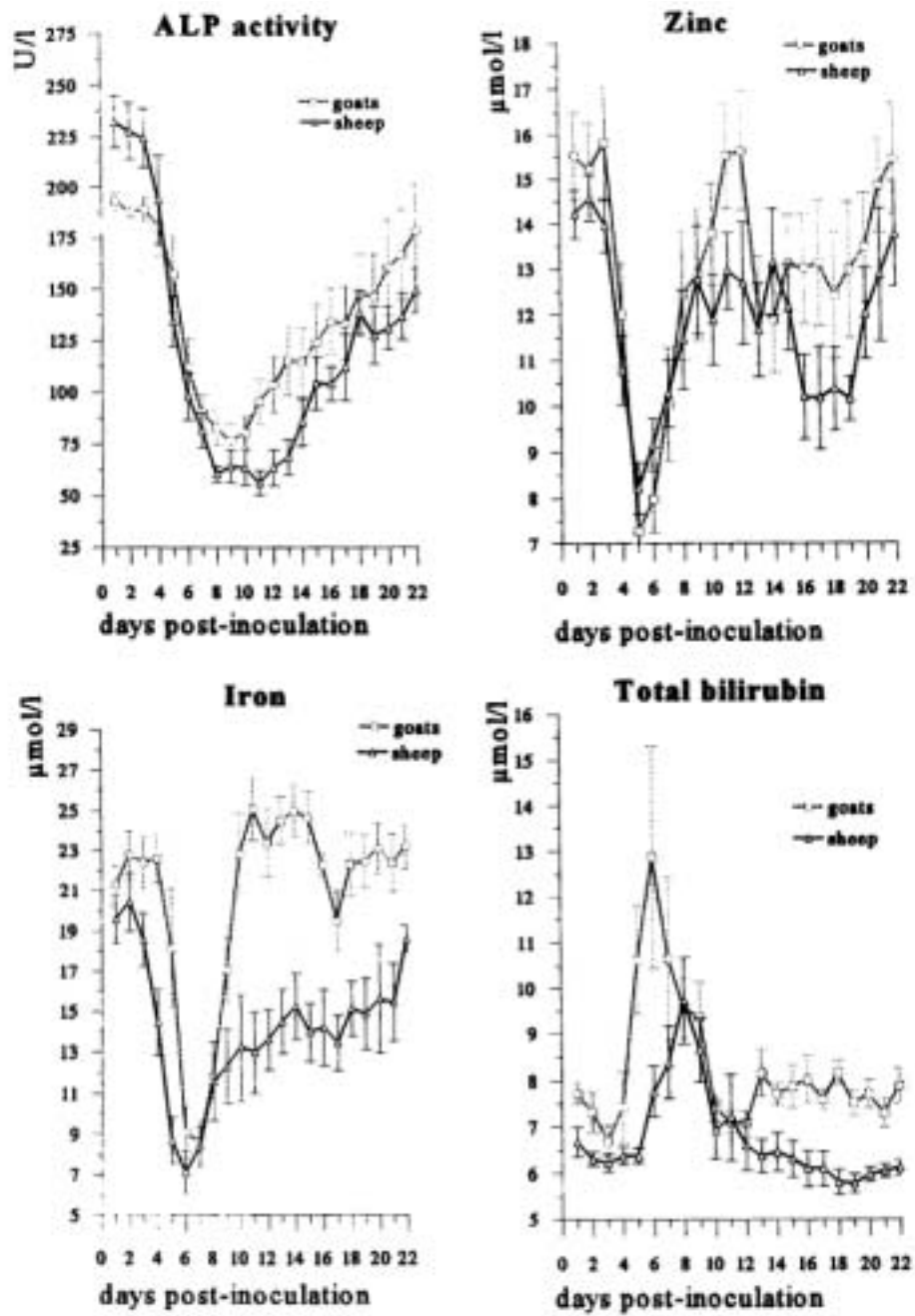
La concentration en zinc chute 3 jours après l'inoculation et se prolonge au moins 15 jours avant de retrouver un niveau normal.

**b. Fer**

La concentration chute 3 à 5 jours après inoculation, se prolonge jusqu'à 18 jours et apparaît plus marquée chez le mouton que chez la chèvre.

**c. Bilirubine totale**

Une augmentation des valeurs apparaît 4 jours après l'inoculation et reste présente environ 4 jours.



Résumé des modifications hématologiques, d'après (16):

- (a) réaction fébrile
- (b) réponse des leucocytes
- (c) réponse des lymphocytes
- (d) réponse des neutrophiles
- (e) réponse des monocytes
- (f) réponse des éosinophiles

#### d. Urée

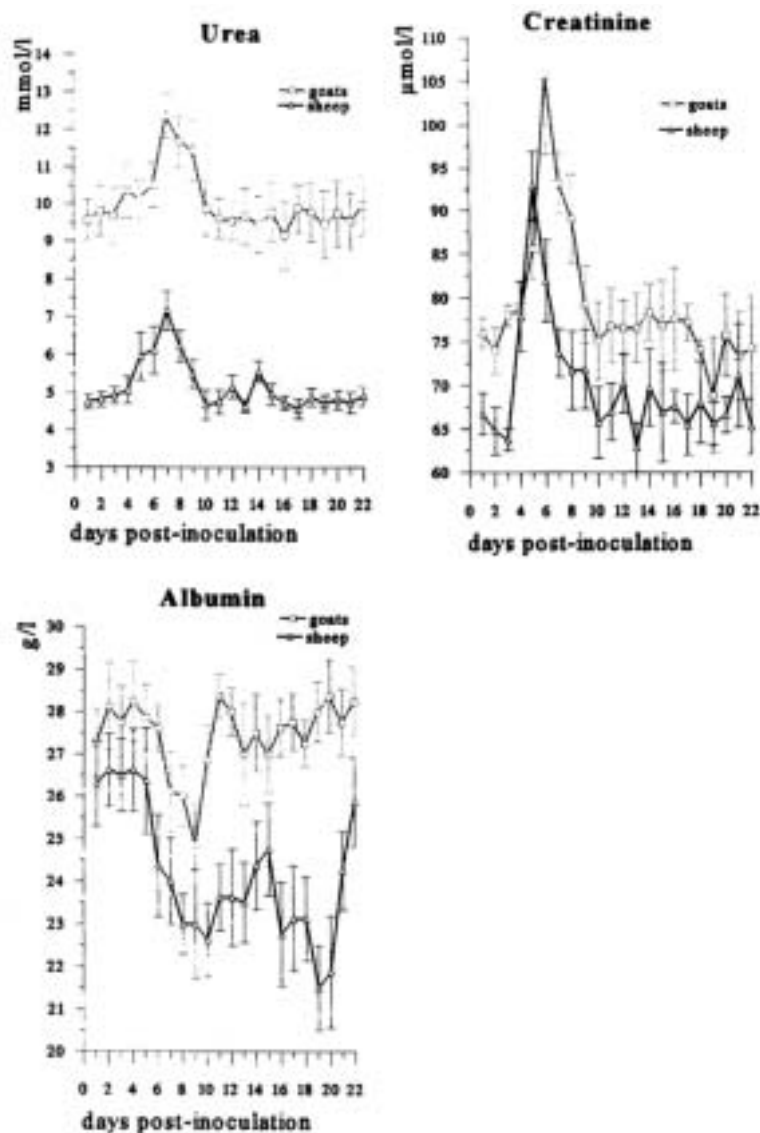
L'urémie peut atteindre une valeur supérieure à 13 mmol/l chez le mouton, 4 à 5 jours après inoculation et se maintenir pendant 4 jours.

#### e. Créatinine

Augmentant 3 à 4 jours après inoculation, elle peut se maintenir à des valeurs élevées pendant 3 jours.

#### f. Albumine

Gokce et Woldehiwet ne trouvèrent une augmentation significative que chez le mouton entre 6 et 20 jours après l'inoculation.



Moyenne et erreur standard sur la moyenne des concentrations en urée, créatinine et albumine dans le sang périphérique de huit chèvres et huit moutons expérimentalement infectés par *A. phagocytophilum*, d'après (37).

D'autres études menées par Véronica N. Offiah montrèrent, en 1992, que la réponse de l'organisme à la phase aiguë de la maladie pouvait entraîner des modifications biochimiques mais également métaboliques (56). L'auteur étudie le catabolisme du chloramphénicol et de la sulfamézathine chez les chèvres naines et démontre qu'il est ralenti lors d'infection à *A. phagocytophilum*. La demi-vie d'élimination de ces deux drogues est donc prolongée chez les malades.

#### **4. Lésions**

Peu d'études décrivent les lésions macroscopiques et microscopiques retrouvées chez les animaux atteints, de surcroît lors d'infections naturelles. Les données concernent essentiellement des animaux morts ou sacrifiés lors d'infections expérimentales. Les lésions décrites sont discrètes.

##### **a. Macroscopiques**

Les principales lésions sont décrites en 1994, par R.S.F. Campbell *et coll.* lors d'infections expérimentales chez le mouton (16). Elles concernent les poumons, le système lymphoréticulaire, le foie, les reins, le cœur et le cerveau, mais restent souvent absentes (82).

##### Pulmonaires

On constate la présence de foyers de pneumonie et de pleurésie localisés. Ces lésions limitées apparaissent rapidement lors de la phase aiguë de la maladie, puis régressent pour disparaître en trois semaines.

##### Hépatiques

Le foie est augmenté de volume, décoloré et peut présenter, parfois, des pétéchies sous-capsulaires (17).

##### Cardiaques

Les études expérimentales décrivent des cas isolés de lésions cardiaques, sans pouvoir corréler avec exactitude leur existence avec l'anaplasmose granulocytaire. La littérature décrit un cas de myocardite focalisée (16), un œdème péricardique (64) ou encore des hémorragies endocardiques accompagnées d'un léger hydropéricarde (88).

##### Système lymphoréticulaire

La lésion la plus constamment décrite est la splénomégalie (14)(16)(17)(21)(55). La réaction du système lymphoréticulaire est généralisée et l'on retrouve une augmentation de volume des nœuds lymphatiques. La splénomégalie persiste durant plus de trois semaines après l'inoculation.

Cette description lésionnelle concerne l'essentiel des souches d'*A. phagocytophilum*.

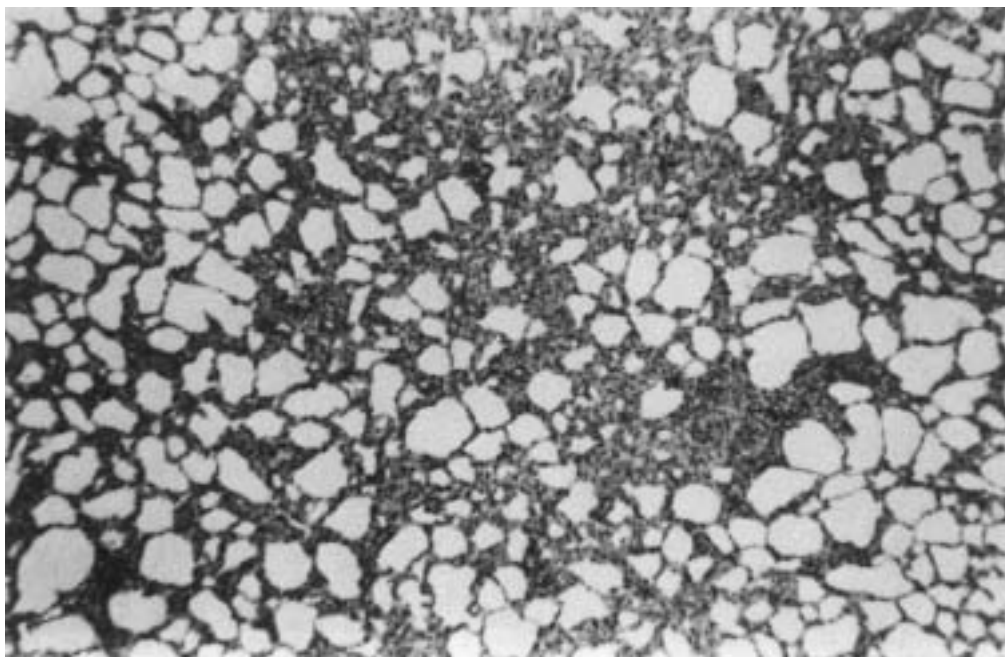
Néanmoins, la virulence de certaines souches peut provoquer des lésions plus importantes. R.E. Purnell décrit, en 1978, l'atteinte d'une vache de l'Isle de Man, par une souche particulièrement virulente d'*A. phagocytophilum* (64). L'inoculation de cette souche à une vache splénectomisée et à une vache intacte entraîna la mort dans les deux cas. L'examen post-mortem de la vache splénectomisée révéla des lésions beaucoup plus importantes que celles généralement décrites. Les organes les plus atteints furent les reins, dont le cortex pris une coloration jaune et montra d'importantes pétéchies. Le bassinet était œdémateux et il y avait quelques hémorragies capsulaires. Le cœur montrait une diminution des cavités ventriculaires ainsi qu'un léger œdème épocardique. Les poumons, quant à eux, étaient congestionnés dans leur partie craniale, un œdème médiastinal était présent ainsi qu'une hypertrophie des nœuds lymphatiques médiastinaux. Il faut noter, enfin, que des lésions annexes ont été rapportées par Mac Ewen, en 1947, et par G.R. Scott (82). Ces lésions consistent en des hémorragies au niveau du colon et des séreuses, ainsi qu'en des pétéchies du reste de la muqueuse intestinale (88). Ces lésions peuvent être attribuées à la thrombocytopénie provoquée par l'infection, sans que cela soit la seule cause.

## **b. Lésions histopathologiques**

Les atteintes histologiques se caractérisent par une réaction généralisée du système lymphoréticulaire. On retrouve une hyperplasie parafolliculaire au niveau des nœuds lymphatiques et de la rate. Les autres organes, tels que les poumons - au niveau des parois alvéolaires - le foie, les reins et le cerveau, montrent une infiltration des petites veines et artères expliquant probablement l'œdème des membres parfois décrit (14). Les lésions microscopiques des différents organes sont aussi décrites par R.S.F. Campbell en 1994 (16).

### Pulmonaires

L'auteur décrit une alvéolite focale - les alvéoles atteintes étant en partie collabées - et œdémateuse. Quelques neutrophiles sont présents au niveau interstitiel, puis suivent quelques lymphoblastes et lymphocytes. Sont également présentes des inclusions cytoplasmiques d'*A. phagocytophilum* rapidement après inoculation. Les poumons sont les premiers organes où l'on retrouve les inclusions intragranulocytaires, avant même leur détection dans le sang périphérique (55). L'hypercellularité du septum alvéolaire est avant tout due à de grosses cellules mononucléées et à la congestion vasculaire. Cet envahissement cellulaire peut conduire à l'apparition de zones tissulaires compactes, autour des bronchioles terminales (55). On note enfin une augmentation du nombre de macrophages dans la lumière des alvéoles (88).



Poumons, sept jours après inoculation: alvéolite sublobulaire focale avec collapsus partiel mais sans exsudation (x 70), d'après (16).

### Lymphatiques

La présence d'inclusions cytoplasmiques à *A. phagocytophilum* est rapide, ainsi qu'une réaction réticulaire et lymphoblastique, suivie par la formation de syncytiums par de grosses cellules mononucléées et enfin, lors de la troisième semaine, par une hyperplasie folliculaire qui devient dominante (16).

### Spléniques

On retrouve, au niveau de cet organe, une hyperplasie marquée avec la présence en nombre d'inclusions granulocytaires, entre la première et la troisième semaine postinoculation. Ces inclusions d'*A. phagocytophilum* sont également détectées dans les cellules de Küpffer.

### Hépatiques

Le tissu hépatique est infiltré par des lymphocytes, dans lesquels on retrouve quelques inclusions, en particulier, au niveau du système porte.

### Rénales

On constate une hypertrophie glomérulaire avec des infiltrations lymphoréticulaires et la présence de quelques inclusions. Cette hypertrophie glomérulaire est essentiellement due à un épaississement du mésangium.



## C. PHASE SUBAIGUE ET COMPLICATIONS

Nous avons décrit, précédemment, que la phase aiguë de la maladie s'exprimait, en 3 à 7 jours, par un accès de fièvre et par une chute leucocytaire marquée. La phase subaiguë de l'anaplasmose granulocytaire est conditionnée par la lente remontée du taux de leucocytes qui induit, durant cette période, une forte immunodépression. L'infection fait, pendant les trois semaines suivant l'inoculation, le lit d'infections latentes ou de surinfections.

Ce sont ces complications qui donnent son impact économique à la maladie.

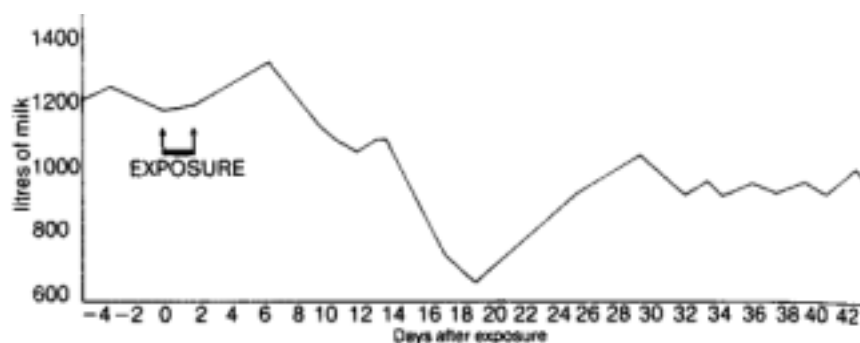
### 1. Signes cliniques

#### a. dus à *A. phagocytophilum*

Passé la phase aiguë de la maladie, la persistance de symptômes est liée à la virulence de la souche du parasite. Par exemple, les rares cas de mortalité décrits interviennent une quinzaine de jours après l'inoculation (14)(64).

Des cas de périodes de fièvre récurrente ont été rapportés (90). Les animaux pouvant manifester une deuxième hyperthermie 8 à 15 jours après la première et jusqu'à trois poussées, décrites chez les agneaux dans les premiers mois.

Chez les vaches laitières, la production de lait chute de manière prolongée et peut, en fonction de son stade, ne jamais retrouver un niveau normal (21).



Production quotidienne de lait d'un troupeau après exposition  
sur des pâtures infestées par des tiques  
durant les mois de juin et juillet, d'après (21).

Brun-Hansen décrit chez des génisses des cas de toux persistante (14). Malgré ces quelques cas, la maladie reste totalement asymptomatique, après l'accès de fièvre, chez la très grande majorité des animaux.

## **b. Complications**

Bien plus que la phase aiguë de la maladie, ce sont ses complications qui lui donnent sont intérêt. En effet, l'infection par *A. phagocytophilum* peut ouvrir la voie à de nombreux germes, en particulier, au niveau respiratoire. Une autre complication fréquente de l'anaplasmose granulocytaire est l'avortement des animaux atteints, ainsi que des complications génitales pour les mâles adultes. Les études des différentes complications sont beaucoup plus nombreuses chez les ovins, et en particulier chez les agneaux, que chez les bovins.

### La pyohémie à tiques

C'est une maladie due à *Staphylococcus aureus* très fréquente chez les agneaux, durant la période d'activité des tiques. Elle se traduit par une boiterie sévère allant jusqu'à la paralysie, ainsi que par l'apparition d'abcès multifocaux (112) qui peuvent avoir des conséquences plus ou moins importantes suivant l'organe atteint (11).

Lorsque les premières relations eurent lieu entre la pyohémie et les tiques, les auteurs étaient convaincus que c'était la tique, lors de son repas, qui transmettait *Staphylococcus aureus*. Il est maintenant admis que la transmission peut se faire de multiples façons et que la pyohémie se développe souvent après l'infection par *A. phagocytophilum* (57). Ainsi, Brodie *et coll.* relatent, en 1986, que l'inoculation intraveineuse de *S. aureus* à des moutons conduit au développement d'une pyohémie chez 20% d'entre eux (11). En revanche, l'inoculation chez des animaux précédemment atteints d'anaplasmose granulocytaire conduit à 57% de moutons atteints de pyohémie.

### L'infection « louping-ill »

La « louping-ill » est une encéphalomyélite du mouton due à un arbovirus (11). Mac Leod et Gordon, en 1932, avaient émis l'hypothèse que l'infection par ce virus pouvait être facilitée chez les animaux précédemment atteints d'anaplasmose granulocytaire. Reid *et coll.* vérifièrent cela expérimentalement (11). Les moutons atteints d'anaplasmose granulocytaire, puis contaminés par le virus « louping-ill », développent tous des signes d'encéphalomyélite, avec un taux de mortalité, ce qui n'est pas du tout le cas lors de « louping-ill » seule. L'infection par *A. phagocytophilum* facilite l'invasion par le virus du système nerveux central, ainsi que l'invasion par un champignon : *Rhizomucor pucillus*.

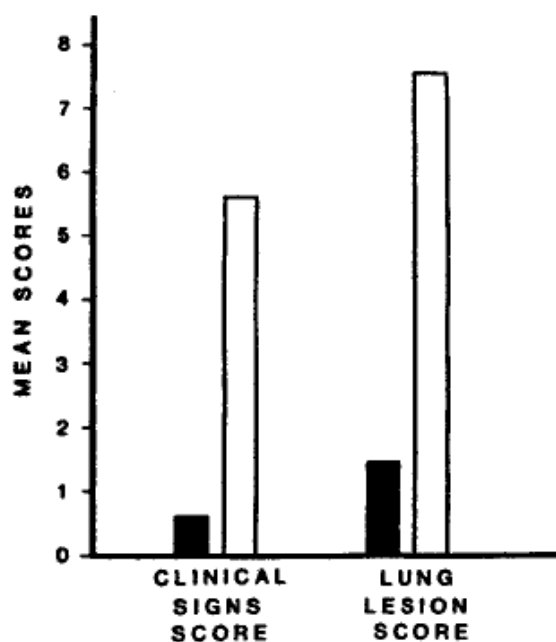
Les lésions hémorragiques au niveau rénal, hépatique et intestinal sont beaucoup plus marquées chez les animaux atteints par les deux microbes.

La conclusion des auteurs est que la « louping-ill » se trouve considérablement aggravée par la présence d'*A. phagocytophilum*, en particulier chez des animaux naïfs, arrivant en zone d'endémie d'anaplasmose granulocytaire (103).

### Les infections respiratoires

L'anaplasmose granulocytaire provoque des lésions et signes respiratoires limités et même souvent inexistantes. Malgré cela, l'infection agit nettement sur l'immunité et en particulier sur l'immunité locale en contaminant, entre autres, les macrophages des alvéoles (88)

(82). L'une des surinfections les plus fréquentes est donc la pneumonie. Plusieurs germes sont mis en cause dans l'apparition de ces pneumonies et en particulier *Pasteurella sp.* ainsi que le virus *Parainfluenza III* (PI 3). Foggie, en 1951, rapportait que 41 % des moutons infectés par *A. phagocytophilum* développaient, par la suite, une pneumonie à *Pasteurella haemolytica* sérotype A1, sept jours après leur avoir inoculé *A. phagocytophilum*. Les sept agneaux d'un mois développèrent tous une pneumonie sévère, en revanche, sept autres agneaux, qui ne reçurent que *Pasteurella haemolytica*, montrèrent des signes moins importants et des lésions moins sévères lors de l'autopsie. Les résultats sont portés, ci-dessous, suivant la méthode de notation des signes cliniques et des lésions établis par Gilmour *et coll.* en 1982.



Signes cliniques et lésions pulmonaires chez des agneaux expérimentalement infectés par *Pasteurella haemolytica* seule (■) et simultanément par *A. phagocytophilum* (□). D'après (6).

Le virus *Parainfluenza III* est un germe également souvent mis en cause dans les pneumonies enzootiques des ovins et des autres ruminants. Batungbacal et Scott étudièrent sur des agneaux (6) les effets d'*A. phagocytophilum* seule et associée au virus PI 3. Alors que les animaux inoculés avec l'un des germes montrent des signes cliniques modérés, ceux ayant reçu l'association présentent une détresse respiratoire marquée pouvant conduire à la mort.

Les animaux les plus touchés sont ceux ayant reçu le virus *PI 3*, au moment du pic de parasitémie à *A. phagocytophilum*.

MESURES CLINIQUES DANS UN LOT DE 10 AGNEAUX INOCULÉS AVEC DU SANG INFECTÉ PAR LA TBF SEULE OU PAR LA TBF ET LE VIRUS PI.3 MOYENNE ET ÉCART-TYPE						
Groupe expérimental						
Mesure	Virus PI-3 seul	TBF 10 <sup>-1</sup> et Virus PI-3	TBF 10 <sup>-3</sup> et Virus PI-3	TBF 10 <sup>-1</sup> et Virus PI-3 au pic de la TBF	TBF 10 <sup>-1</sup> seul	Variance (d.f. 4,45)
Periode Incubation (jours)	2.3±0.4	2.4±0.8	3.0±1.1	2.5±0.5	2.0±0.6	2.43
Température maximale (°C)	41.0±0.3	41.9±0.2	41.9±0.3	42.0±0.2	41.7±0.2	21.59*
Jour de température maximale (Nombre de jours après pic de fièvre)	1.2±1.0	1.4±1.4	1.8±0.8	1.8±0.8	1.7±1.4	0.77
Durée de la fièvre (jours)	4.0±0.9	7.5±1.2	8.5±1.7	9.3±1.8	6.6±2.5	13.16*
Magnitude de la fièvre (mm2)	1150±234	2758±896	3285±868	3698±687	2108±614	20.77*
*P<0.01.						

Les auteurs rapportent enfin que la durée d'excrétion du virus est augmentée de manière significative par l'anaplasmose granulocytaire.

En dernier lieu, un troisième germe intervenant dans les pneumonies des ovins bénéficia d'études : *Chlamydia psittaci*. Munro *et coll.* en 1982 (55), inoculèrent soit simultanément, soit à 4 jours d'intervalle des moutons avec *Chlamydia psittaci* et *A. phagocytophilum*, et constatèrent que l'infection conjointe produisait une atteinte pulmonaire plus étendue. Le rôle immunodépresseur d'*A. phagocytophilum* intervient le plus clairement au niveau bronchiolaire et alvéolaire, où l'installation et surtout la non destruction de *Chlamydia psittaci* est facilitée.

#### Avortements et mortinatalités

Des cas d'avortements, attribuables à *A. phagocytophilum*, ont été décrits chez la vache et le mouton (45)(100). Les auteurs n'attribuent pas avec certitude ces avortements au germe ou à une surinfection, mais il apparaît, néanmoins, qu'ils résultent directement de l'anaplasmose granulocytaire. Ces complications gynécologiques ont lieu chez des femelles gestantes naïves, introduites sur des pâtures infestées par la tique *Ixodes ricinus*.

La description faite par Jones et Davies, en 1995, concerne un troupeau de 350 agnelles, dont 255 avortèrent (91%) et 20 (7%) décédèrent, dans les semaines suivant leur introduction dans la région infestée. Trente-cinq agneaux sont nés vivants, mais chétifs et faibles, parmi eux, cinq moururent dans la première semaine de vie (45).

Lors de cette étude clinique, les auteurs ont éliminé des causes d'avortements fréquentes chez les ovins, comme la chlamydiose, la toxoplasmose, la « louping-ill », la Fièvre Q. Les examens sérologiques par immunofluorescence furent fortement positifs pour *Anaplasma*.

D'autres épisodes enzootiques d'avortements ont été décrits chez les ovins (Herbow, 1945 ; Stam et Watt, 1950 ; Jamieson, 1950 ; Littlejohn, 1950).

L'avortement, comme conséquence de l'infection, a été pour la première fois rapporté chez la vache par Wilson et Foggie, en 1964 (100). Lors de cette observation, les avortements furent constatés entre le 8ème et le 9ème mois de gestation (10 jours à 6 semaines après l'ar-

rivée sur des pâtures infestées des vaches naïves). Des veaux vivants sont nés chétifs et quelques uns moururent quelques jours après la mise bas. Les auteurs utilisèrent du sang infecté pour inoculer *Anaplasma* à des vaches gestantes et moins avancées. Quatre de ces cinq animaux montrèrent des signes d'anaplasmose granulocytaire, mais aucun n'avorta.

Il semble que les avortements interviennent sur des vaches contaminées par *A. phagocytophilum* pour la première fois en fin de gestation.

Les autres complications décrites concernent le rôle de l'anaplasmose granulocytaire lors de listériose (Gronstol et Ulvand 1977), d'entérotoxémie, ainsi que des cas d'infertilité chez des béliers et des taureaux (Watson, 1964 ; Retief *et coll.*, 1971). Le rôle potentialisateur de l'anaplasmose granulocytaire fut enfin étudié par Gokce et Woldehiwet (35) lors d'ecthyma contagieux et Brun-Hansen *et coll.* (15) lors d'infection conjointe avec *Babesia divergens*. On peut noter pour ce dernier pathogène que les études menées par Purnell *et coll.* (63) sur des vaches splénectomisées tendent à montrer une suppression de *Babesia* par *Anaplasma*, mais que cette hypothèse n'a pas été confirmée par Brun-Hansen *et coll.* sur des animaux non splénectomisés. Ces derniers ne remarquèrent pas de rôle aggravant d'*Anaplasma* lors d'infection par *Babesia*.

## **2. Hématologie**

Les bouleversements hématologiques ont déjà été abordés lors de la phase aiguë. Les populations cellulaires touchées ne retrouvent un niveau initial qu'au bout de trois semaines environ. Elles restent donc diminuées durant la phase subaiguë de la maladie et conditionnent la survenue de complications fréquentes.

La durée des modifications cellulaires correspond à la durée de parasitémie significative (35).

L'étude des populations de lymphocytes, et en particulier du nombre de lymphocytes B, montre une augmentation à partir du 14<sup>ème</sup> jour, ce qui peut signer le début d'une immunité humorale (5).

## **3. Biochimie**

De même que les modifications hématologiques, les modifications de la biochimie sanguine sont durables et conditionnent les complications.

Par exemple, Gokce et Woldehiwet (37) montrèrent que la chute du zinc plasmatique durait trois semaines environ. Or le zinc est un composant de nombreuses enzymes (anhydrase carbonique), de récepteurs protéiniques pour des hormones (hormone de croissance, estradiol, progestérone) et des vitamines (A, D3) (29). Une déficience en zinc perturbe la spermatogénèse et provoque une atrophie des tubules séminifères expliquant les stérilités observées chez le bélier (95).

## D. PHASE CHRONIQUE

La phase chronique de la maladie n'a pas de manifestation clinique. Néanmoins, le parasite peut persister dans l'organisme plus de deux ans (17). De nombreux accès cliniques, pouvant être attribués à un « réveil » de l'infection, sont en fait plutôt liés à une contamination par une autre souche d'*A. phagocytophilum*.

La parasitémie et l'immunosuppression ne dépassent pas la durée de six semaines post-inoculation et les données quant au portage chronique sont peu nombreuses, en particulier en ce qui concerne la localisation du parasite dans l'organisme.

La durée du portage chronique est beaucoup plus longue chez les ovins que chez les bovins. La capacité des moutons à rester infectants plus de deux années explique leur rôle essentiel dans l'épidémiologie de la maladie, bien que le parasite ne soit plus décelable dans le sang à ce stade d'évolution (57). Les études menées par Foggie en 1951, décrivaient le cas d'un mouton dont le sang était contaminant à 4, 6, 23 et enfin 26 semaines après infection (90). Le parasite n'était plus détecté dans le sang à la 47ème semaine, mais, réapparaissait dans les échantillons prélevés à la 48ème semaine après splénectomie. Stuen en 1968 (90) relate les difficultés d'étude de la persistance de la maladie lorsque les sangs de cinq agneaux se révèlent contaminants, alors que seul l'un d'entre eux possède plus d'un neutrophile contaminé sur 400.

## IV. PATHOGENIE ET IMMUNITE

Les mécanismes d'action d'*A. phagocytophilum* sont encore très peu connus. L'appartenance phylogénique du genre n'a cessé d'évoluer depuis sa découverte et son identité d'espèce n'est pas encore stabilisée. Cela est à mettre en relation avec les nombreuses zones d'ombre subsistant quant à son activité au sein de l'organisme, en particulier lors d'infestation naturelle.

### A . INFECTION

#### 1. Tropisme et contamination cellulaire

Les bactéries du genre *Anaplasma* ont toutes des tropismes tissulaires précis (13). Comme cité précédemment, Munro décrit des inclusions cytoplasmiques au niveau pulmonaire avant même leur détection dans le sang (55). Bien que les granulocytes du sang soient la cible privilégiée d'*A. phagocytophilum*, une affinité pour les tissus des poumons, de la rate et du foie est probable, sans pour autant que soit connue la propagation tissulaire.

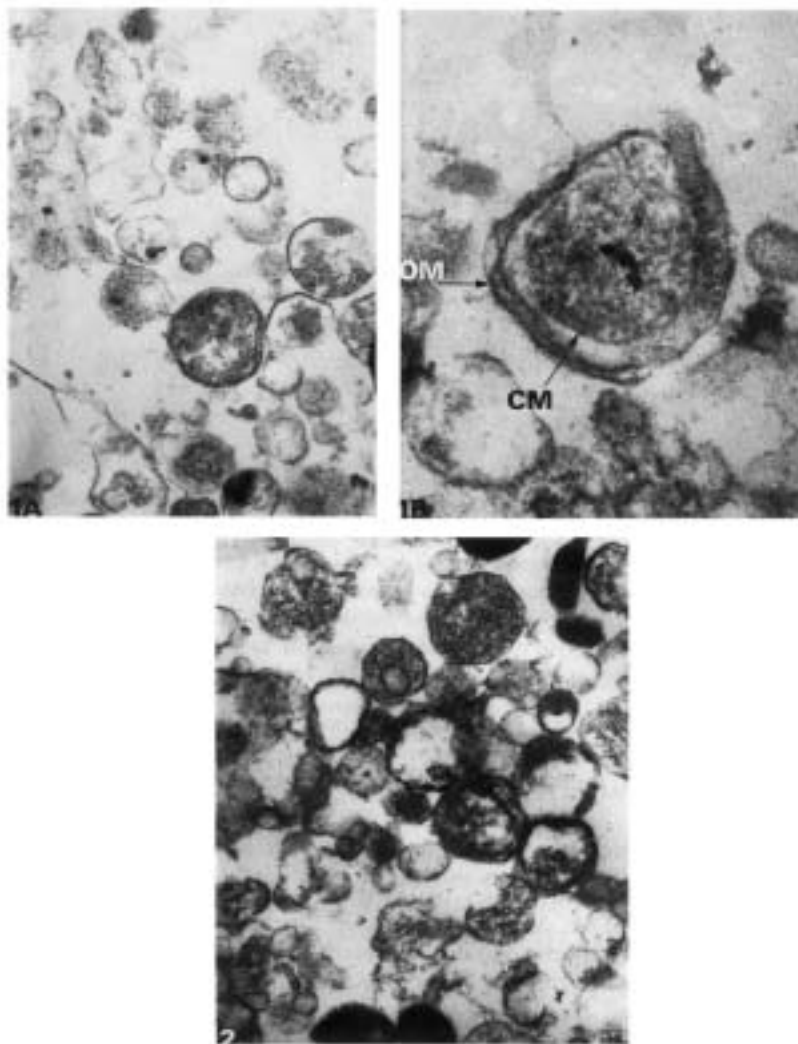
Il semble que la contamination des granulocytes ne s'effectue pas avant leur arrivée dans le sang circulant (112). Cette hypothèse est renforcée par le caractère infectant du plasma de moutons, 24 heures après contamination, alors que les inclusions cytoplasmiques ne sont pas encore détectables (89).

La contamination des granulocytes s'effectue par phagocytose de la bactérie (99).

## 2. Mode de survie intracellulaire

*A. phagocytophilum* montre une capacité peu commune à survivre au sein des granulocytes. En effet, la plus grande partie des organismes phagocytés par ces cellules est détruite rapidement. Non seulement *A. phagocytophilum* est capable de résister mais elle est également capable de se multiplier dans leur cytoplasme (36).

La survie d'*A. phagocytophilum* est liée à son isolement du cytoplasme de la cellule dans une vacuole à double membrane, l'une formée par la bactérie, l'autre appartenant à la cellule cible (13).



1. (A) Coupe mince de structures rickettsiales purifiées à partir de leucocytes infectés par *A. phagocytophilum* par gradient de centrifugation de Percoll (x 33 000).  
(B) Rickettsie purifiée à partir de leucocytes infectés montrant la membrane cellulaire (CM) et la membrane externe (OM) (x 82 500).
2. Coupe mince de structure rickettsiales purifiées à partir de leucocytes infectés par *A. phagocytophilum* par gradient de centrifugation de Renografin (x 33 000).  
D'après (13).



Comme le décrivent Brouqui et Raoult en 1991, la bactérie possède la capacité d'inhiber la fusion phagosome-lysosome (P-L) grâce à son métabolisme (13).

Gokce, Ross et Woldehiwet ont particulièrement étudié cette capacité d'inhibition en 1999 (36). Grâce à des marqueurs lysosomaux enzymatiques et non-enzymatiques, ils décrivent l'inhibition de la fusion P-L au sein des polynucléaires de moutons.

Il ressort de leur étude que *A. phagocytophilum* ne diminue pas les capacités de lyse de la cellule mais que seuls les phagosomes contenant la bactérie ne sont pas détruits. Les auteurs montrent en effet que les polynucléaires contenant *A. phagocytophilum* gardent leur capacité à lyser *Candida albicans*.

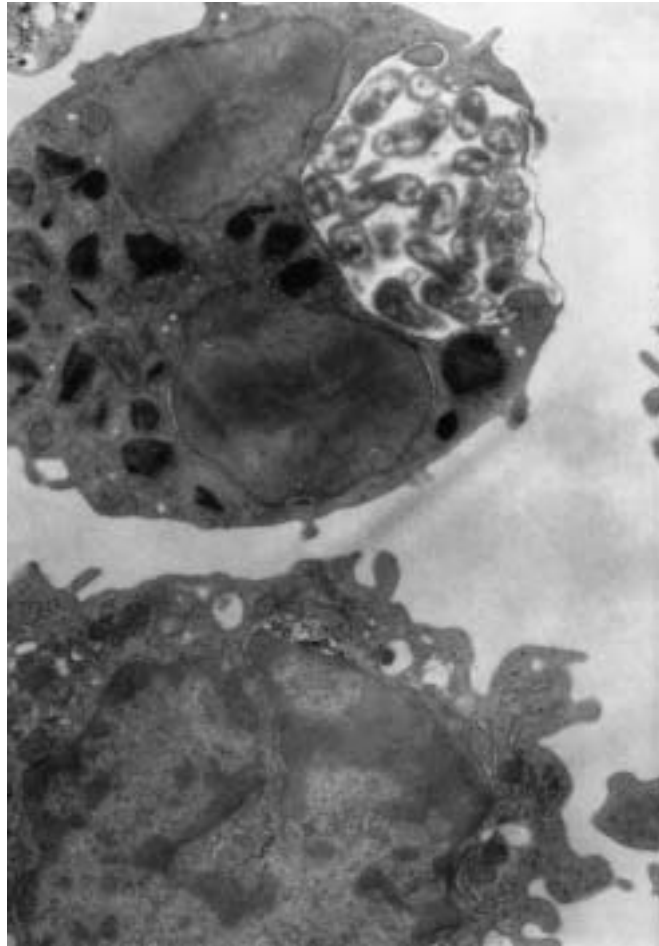
D'autre part, on sait que l'oxytétracycline agit en inhibant la synthèse protéique des bactéries sensibles comme *A. phagocytophilum*. Or, l'incubation de polynucléaires infectés en présence d'oxytétracycline rétablit la fusion P-L (99). Cela suggère que *A. phagocytophilum* libère en permanence des substances inhibant la fusion.

Il reste à découvrir la nature de ces substances, leur rôle ou appartenance à la double membrane vacuolaire ainsi que l'ensemble du contenu du phagosome.



### 3. Propagation bactérienne

Les corps élémentaires d'*A. phagocytophilum* sont capables de se multiplier par division binaire au sein du phagosome et de se regrouper pour former des morulas. Les différentes particules quittent ensuite la vacuole lorsqu'elle deviennent nombreuses. Le mécanisme suivant lequel les particules sont éjectées de la cellule reste inconnu (105). Les deux possibilités décrites sont la lyse du phagosome ou une simple exocytose (13).



Granulocyte éosinophile contenant une grande inclusion consistant en de larges particules dans une vacuole cytoplasmique. La morphologie générale de la cellule ne semble pas affectée par l'inclusion. Une partie d'un monocyte est visible sous l'éosinophile, d'après (93).

### 4. Conséquences

Les effets les plus importants de l'infection sont la fièvre, l'augmentation du rythme cardiaque et une diminution des contractions ruminales (95). Ces effets, lors d'injection expérimentale de pyrogènes bactériens, sont dus, en partie, à une production de pyrogènes endogènes par les monocytes et neutrophiles activés. Les études menées n'ont pas permis de mettre en évidence cette production lors d'anaplasmose granulocytaire.

La chute des contractions du rumen a également été reliée à la production des prostaglandines E2 (95).

Les auteurs mettent, enfin, en relation les effets de l'infection avec les lipopolysaccharides de la bactérie.

## B. IMMUNOSUPPRESSION

L'immunosuppression est directement liée à la leucopénie notable lors d'anaplasmose granulocytaire. C'est un des aspects les plus étudié par les auteurs mais les questions restent pourtant nombreuses.

Cet aspect de l'anaplasmose granulocytaire intéressa très tôt les chercheurs car il semblait clair que les animaux atteints étaient plus vulnérables à d'autres germes (111).

Les mécanismes causant l'immunosuppression sont probablement liés à la diminution du nombre de cellules blanches circulant et à la destruction de certaines de leurs fonctions.

Foggie montra en 1956 et 1957 que l'injection de Staphylocoques à des agneaux porteurs d'*A. phagocytophilum*, en nombre insuffisant pour provoquer une pyohémie chez des animaux sains, produisait la maladie. Il montra aussi que le sang des malades était moins apte à détruire les Staphylocoques *in vitro*. Woldehiwet montra en 1987 que la capacité des polynucléaires neutrophiles à phagocyter et à tuer *Staphylococcus aureus in vitro* était réduite et qu'ils étaient également moins adhérents au verre que des polynucléaires normaux (102).

## C. PORTAGE CHRONIQUE ET IMMUNITÉ

L'importance de l'immunité de primo-infection pose d'épineux problèmes lors de portage chronique. Il a rapidement été montré que les moutons pouvaient être porteurs du germe pendant une période de deux ans mais qu'ils étaient également moins sensibles aux réinfections (57). Les études chez la chèvre montrent que le sang des animaux peut rester infectant plus de 24 mois, alors que les inclusions cytoplasmiques ne sont pas détectables dans les granulocytes.

Le degré d'immunité protectrice développée par les ruminants infectés est très variable et le rôle respectif de l'immunité humorale et cellulaire est peu connu.

L'immunité de réinfection croisée par des souches hétérologues (par exemple lors de réinfestation croisée par des souches ovins-bovins) est de peu d'efficacité alors qu'une véritable immunité protectrice vis à vis de souches homologues semble se mettre en place (107).

Certains auteurs (Stamp et Watt, 1950) parlent d'une immunité durable et solide alors que d'autres décrivent la nécessité de réinfestations fréquentes pour la maintenir (11)(17).

La protection colostrale semble acquise chez les agneaux de mères infectées durant quelques semaines (87)(89).

De manière plus générale, l'âge, l'espèce et les conditions d'élevage jouent un rôle important.

La plus grande interrogation concerne donc les rôles de l'immunité cellulaire et humorale. Nous avons vu que *A. phagocytophilum* induisait une baisse en lymphocytes T et B. Cette chute des lymphocytes T concerne à la fois les cellules « helper » (CD4) et les cellules « cytotoxique » (CD8). La production de lymphokines et cytokines est également perturbée (112). Woldehiwet et Scott en 1982 montrèrent une production d'IgM et d'IgG dans les deux semaines suivant l'infection et que le taux d'IgM restait élevé chez les porteurs chroniques (107). Les auteurs suggèrent une relation entre ces taux d'anticorps et la résistance face aux réinfections homologues.

## **V. DIAGNOSTIC**

### **A. EPIDEMIOLOGIQUE**

Le diagnostic épidémiologique est essentiel, car le tableau clinique de la maladie est très frustrant. En revanche, l'épidémiologie est directement liée à la niche écologique et à l'activité de la tique *Ixodes ricinus*. C'est, avant tout, elle qui permet le diagnostic de suspicion.

#### **1. La zone géographique et climatique**

La maladie montre une répartition dans toute l'Europe mais elle n'est, a priori, présente que dans les zones tempérées (82)(81), les zones d'altitude en étant dépourvues.

Au niveau local, les pâtures les plus susceptibles d'accueillir *Ixodes ricinus* sont celles bordées de bois (44).

#### **2. La période de l'année**

L'évolution de la maladie nécessite le pâturage des animaux et l'activité de la tique, et connaît donc deux pics, au printemps et en automne, des cas pouvant également être rencontrés au cours de l'été (4)(44)(45).

#### **3. L'activité de la tique *Ixodes ricinus***

*Ixodes ricinus* est le vecteur de plusieurs pathogènes pour les ruminants, en particulier *S. aureus*, chez les ovins (112), et *Babesia divergens* chez les bovins (15)(63). Ces deux germes provoquent des maladies au tableau clinique évocateur et mettent en évidence l'activité d'*Ixodes ricinus* dans l'environnement des animaux atteints. Les tiques peuvent être, de surcroît, porteuses de ces germes au même moment. La présence de cas de pyohémie à tiques ou de babésiose bovine sont donc des indices permettant de suspecter la présence d'*A. phagocytophilum*.

#### **4. Le mode d'élevage**

Les différentes études, portant sur les épisodes d'anaplasmose granulocytaire au sein de troupeaux, montrent que les véritables endémies ont lieu lorsque des animaux qui n'ont jamais pâturé sur des parcelles infestées par les tiques y sont introduits pour la première fois (97)(21)(45).

Au sein d'une exploitation, les mouvements d'animaux sortant (par exemple lors d'estive), aussi bien que les achats d'animaux ou que l'achat de nouvelles parcelles, peuvent permettre l'infection d'animaux naïfs particulièrement sensibles à la maladie.

#### **5. Le caractère enzootique**

Dans les régions où *A. phagocytophilum* est présent, la maladie se déclare rarement par des cas isolés (48), mais touche plutôt des troupeaux entiers. Malgré une morbidité importante, le diagnostic de groupe est compliqué par la non-contagiosité de la maladie. La transmission lente de la maladie provoque un étalement dans le temps de l'apparition des cas (4)(44)(45).

Lorsque les conditions évoquées sont présentes, la suspicion épidémiologique de l'anaplasmose granulocytaire doit tenir compte de l'immunosuppression induite. La présence, au sein d'un troupeau, des différentes complications de l'anaplasmose granulocytaire, ou autrement dit, l'évolution aggravée de pathologies habituellement de bon pronostic doit faire penser à la présence d'un germe sous-jacent, *A. phagocytophilum* entre autres.

### **B. CLINIQUE**

Le diagnostic clinique de l'anaplasmose granulocytaire est rendu difficile par un tableau peu évocateur. Malgré l'appellation de « maladie des gros paturons », ce signe est rarement présent et aucun autre signe n'est pathognomonique. Le diagnostic de certitude de l'anaplasmose granulocytaire ne s'effectuera donc qu'au laboratoire (44).

Les signes cliniques de suspicion ne peuvent être évocateurs qu'en zone d'endémie.

#### **1. En phase aiguë**

Le principal signe d'alerte est la forte hyperthermie, toujours présente et accompagnée d'abattement et d'anorexie.

Chez les femelles laitières, la baisse de production est souvent présente, rapide et marquée.

Les signes respiratoires : la toux sèche, la dyspnée, peuvent être discrets mais sont souvent décrits (4)(44)(14)(96). Ces signes respiratoires prennent de l'importance au niveau du groupe car ils peuvent apparaître au fur et à mesure des cas et donc étalés dans le temps, à la différence d'une enzootie de bronchopneumonies.

## **2. En phase chronique**

La phase chronique de la maladie revêt un intérêt dans le diagnostic clinique par deux aspects.

En premier lieu, la récupération des animaux, après l'épisode aigu de la maladie, peut être longue. Secondement, l'anaplasmose granulocytaire peut être suivie des différentes complications déjà évoquées. Le diagnostic envisagera une anaplasmose granulocytaire lorsque des animaux, ayant connus la phase aiguë, ne retrouveront de l'appétit, un dynamisme et une production laitière qu'après une période anormalement longue, le traitement mis en place au départ de l'atteinte ne donnant pas le résultat attendu (96)(21).

L'apparition, dans le troupeau, des complications de l'anaplasmose granulocytaire doit aussi orienter le diagnostic. Les avortements enzootiques, en particulier chez les petits ruminants, ainsi que les atteintes respiratoires graves, mettent en évidence le rôle immunodépresseur d'*Anaplasma phagocytophilum* (11).

## **C. DIAGNOSTIC DE LABORATOIRE**

Le diagnostic de laboratoire consiste en l'étude des prélèvements sanguins et comporte deux aspects : d'une part, l'étude de la numération et de la formule sanguine, d'autre part, la recherche du parasite, ou des anticorps produits. On notera, en marge, l'apport de la biochimie.

Il existe classiquement en laboratoire trois « familles » de tests réalisables pour la recherche d'une maladie.

D'une part, on considère les tests de bactérioscopie (coloration de frottis, immunofluorescence directe), comme des tests de certitude, puisqu'ils mettent en évidence le germe lui-même.

Ensuite, vient la sérologie (fixation du complément, immunofluorescence indirecte), qui n'est considérée que comme un test de présomption, puisqu'elle ne détecte que la réaction de l'organisme cible.

Viennent enfin, les tests d'orientation constitués en particulier par les tests allergologiques, qui ne nous concernent pas pour l'étude d'*Anaplasma phagocytophilum*.

### **1. La numération- formule sanguine**

Le comptage des cellules sanguines n'oriente pas vers un diagnostic de certitude, il a été décrit, néanmoins, que les modifications des populations cellulaires pouvaient être importantes (cf. supra). La difficulté pour le diagnostic provient de la variation de ces effets dans le temps.

L'anaplasmose granulocytaire se caractérise par une sévère leucopénie, coïncidant avec le pic d'hyperthermie (103), mais la chute de la numération des globules blancs ne cor-

respond pas à une formule stable. La chute transitoire des éosinophiles et des lymphocytes est, en effet, relayée en quelques jours par une neutropénie durable (14). La baisse des érythrocytes, ainsi que de l'hématocrite et des plaquettes prend une importance variable selon les auteurs (103)(82)(14).

L'étude de la composition sanguine ne présente un véritable intérêt diagnostique que dans la pathologie de groupe où des numérations leucocytaires anormalement basses, se manifestant avant tout par une neutropénie, peuvent aider.

## **2. La recherche du parasite**

La coloration des éléments figurés du sang permet la visualisation du parasite au sein des granulocytes (et parfois des monocytes). Les différentes colorations sont celles de May-Grünwald Giemsa, de Giroux (44) ou le Diff-Quick<sup>ND</sup> entre autres (14).

Après prélèvement sur anticoagulant (EDTA : éthylène-diamine-tétra-acétique), étalement et coloration, le frottis sanguin est examiné au microscope optique, avec un objectif à immersion (x100).

La proportion de leucocytes infestés n'étant pas très importante chez les bovins (beaucoup plus élevé chez les ovins), on peut avoir recours à la centrifugation afin de n'étaler que le fragment leucocytaire du prélèvement.

L'examen du frottis sanguin par un œil averti procure une bonne sensibilité à la méthode mais le nombre de leucocytes à examiner peut être grand (100 à 500) (66).

Le gros avantage de cette méthode est son faible coût et sa simplicité de mise en œuvre, son inconvénient est qu'elle n'identifie pas avec certitude une espèce d'*Anaplasma*.

Avec la sérologie, l'examen du frottis sanguin reste la méthode de laboratoire utilisable en routine pour le diagnostic de l'anaplasmose granulocytaire des ruminants.

De plus, la présence des morulas d'*Anaplasma* dans les leucocytes se prolongeant au delà de deux semaines, cet examen peut être réalisé après la phase aiguë de la maladie (14).

## **3. La sérologie**

La détection des anticorps spécifiques fait depuis longtemps l'objet de controverses. Les techniques mises en œuvre sont accusées par certains auteurs de manque de sensibilité et de spécificité.

Historiquement, trois techniques de détection des anticorps furent proposées : la fixation du complément (Snodgrass et Ramachandran, 1971), la contre-immunoélectrophorèse (Webster et Mitchell, 1988) et enfin l'immunofluorescence indirecte (Paxton et Scott, 1989).

Les différentes techniques de détection aujourd'hui employées sont dérivées de l'immunofluorescence indirecte (41).

La présence des anticorps spécifiques dans le sérum est rapportée à partir du 9ème jour après l'inoculation et persiste pendant plusieurs semaines (97). Cet aspect de la réaction immu-

nitaire présente avantages et inconvénients. La lenteur d'apparition des anticorps ne donne pas d'intérêt diagnostique à la sérologie lors de l'étude clinique individuelle car l'épisode aigu de la maladie est passé avant la séroconversion. En revanche, la sérologie revêt un grand intérêt lors du diagnostic de groupe pour évaluer la prévalence de la maladie (44).

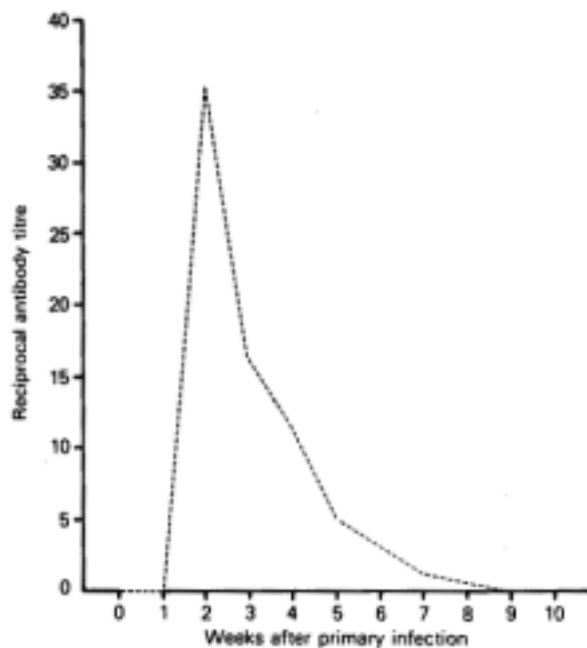
Les différentes techniques immunologiques ont, en outre, permis l'étude du portage chronique de la maladie après une première infestation (97), ainsi que la mise en place de l'immunité (112) et donc la résistance en cas de réinfestation.

#### a. La fixation du complément

Présentée par Snodgrass et Ramachandran en 1971, mais utilisant une mauvaise source d'antigènes, elle fût décrite ensuite par Woldehiwet et Scott (107) et présente un intérêt dans l'étude du portage chronique (Cf. supra) car elle permet la visualisation du taux d'IgM et d'IgG sériques. On obtient par cette méthode des résultats positifs en anticorps à des taux très bas et durant une longue période permettant d'évaluer le statut immunitaire de l'animal bien après l'épisode clinique, ceci restant applicable au mouton.

#### b. La contre- immunoélectrophorèse (97)

Cette méthode semble moins sensible que la fixation du complément car elle ne permet de détecter que les IgM sériques dont le pic, après une première inoculation, est court (97).



Infection primaire par *A. phagocytophilum*.

Valeurs moyennes des titres réciroques en anticorps de huit agneaux, d'après (97).

L'avantage de la méthode est sa rapidité, sa précision, la faible quantité d'antigènes nécessaire et la simplicité de sa mise en œuvre.

### c. L'immunofluorescence indirecte

Cette technique de détection est la plus récente. Décrite premièrement par Paxton et Scott en 1989 (59), elle a connu des améliorations visant à l'obtention plus aisée d'une grande quantité d'antigènes ainsi qu'à une augmentation de la rapidité du test (41).

Les résultats obtenus grâce à cette méthode indiquent, tout comme les autres, une augmentation très nette des anticorps spécifiques vers la deuxième semaine après l'inoculation et la persistance à plus de 15 semaines postinoculation chez le mouton.

SEMAINES POST INOCULATION				
AGNEAUX N°	0	2	6	15
1	Neg	8 192	16 384	4 096
2	128	16 384	16 384	16 384
3	256	2 048	4 096	2 048
4	Neg	8 192	16 384	4 096
5	Neg	8 192	16 384	4 096
6	Neg	8 192	16 384	4 096
7	Neg	8 192	16 384	16 384
8	Neg	4 096	4 096	4 096
9	128	16 384	16 384	2 048
10	Neg	8 192	8 192	4 096
Moyenne (logarithmique)		7 580	11 480	4 680
Médiane		8 192	16 384	4 096

L'expérimentation menée par Hardeng fournit les titres réciproques en anticorps d'agneaux infectés (41).

Quelle que soit la méthode mise en œuvre, la sérologie est un examen de laboratoire qui donne de bons résultats. Les avantages qu'elle présente sont sa rapidité, sa simplicité, la possibilité de traiter un grand nombre d'échantillons simultanément et enfin son coût abordable en routine.

L'inconvénient majeur de ces méthodes de diagnostic est la lisibilité des tests. En effet, l'emploi de la fluorescence (sous UV) peut provoquer l'apparition d'images parasites par des colorations non spécifiques du cytoplasme des cellules ou par l'autofluorescence des granules des éosinophiles (41). Le problème devient alors de choisir le seuil de positivité du test qui, s'il est trop bas, crée des faux positifs et s'il est trop haut, fait chuter la sensibilité de la technique (59).



#### **4. L'amplification génétique en chaîne (PCR : Polymerase Chain Reaction)**

La PCR est l'examen de laboratoire le plus spécifique de la recherche d'*Anaplasma phagocytophilum*, puisqu'il permet l'amplification et le séquençage des gènes codant pour l'ARN 16S ribosomal des différentes espèces d'*Anaplasma*. Il devrait être le test de choix pour confirmer la présence d'*A. phagocytophilum* mais plusieurs obstacles s'y opposent encore.

Le premier obstacle à une utilisation en routine de l'amplification génétique est son coût.

Le deuxième obstacle est la sensibilité de la méthode. Certains auteurs comme Pusterla *et coll.* rapportent une bonne sensibilité, surtout en début et fin d'infection (66). En effet, l'examen microscopique des inclusions et les tests sérologiques sont peu sensibles lors de ces périodes, le nombre d'inclusions cytoplasmiques ainsi que la quantité d'anticorps étant faibles. La recherche a récemment effectuée de gros progrès dans l'adaptation des méthodes de PCR aux membres du génogroupe d'*A. phagocytophilum* (2)(24)(69)(66).

Des amorces spécifiques sont aujourd'hui disponibles et l'emploi de l'enzyme thermorésistante « Taq Man DNA Polymerase » a permis l'automatisation des méthodes classiques (69).

### **D. DIAGNOSTIC NECROPSIQUE**

Les lésions macroscopiques provoquées par *A. phagocytophilum* sont très discrètes, ce qui explique que l'autopsie ne soit pas d'un grand secours dans le diagnostic de la maladie.

La très faible mortalité de l'anaplasmose granulocytaire relègue également cet examen au second plan.

Restent les lésions microscopiques qui peuvent orienter et la détection de la bactérie au niveau des organes colonisés, les données concernant ces deux derniers points sont peu nombreuses.

#### **1. L'examen macroscopique**

Le seul signe régulièrement retrouvé lors d'autopsie est l'augmentation de volume de la rate (4 à 5 fois le volume normal) (16)(64)(88). Les autres lésions décrites sont peu spécifiques et souvent discrètes. Elles peuvent être la manifestation des différentes complications connues, en particulier au niveau pulmonaire et ne facilitent donc pas le diagnostic.

Certains auteurs décrivent des hémorragies sous-capsulaires caractéristiques au niveau de la rate (88).

#### **2. L'examen histopathologique**

De même que pour l'examen macroscopique, les lésions microscopiques sont peu nombreuses et peu spécifiques.

Pour orienter le diagnostic on retiendra l'hyperplasie de tout le système lymphatique et réticulaire.

### 3. L'examen bactériologique

La recherche bactériologique d'*Anaplasma* dans les différents organes colonisés est le seul à présenter un véritable intérêt diagnostique post-mortem. Les différentes techniques sont applicables avant tout au niveau du sang du cœur, de la rate et du poumon. Scott, en 1991, décrit l'emploi de la coloration de May-Grünwald Giemsa sur des coupes de rate.

L'immunofluorescence a également permis de mettre en évidence au sein du tissu splénique les corps élémentaires (lors de la première semaine) et les morulas typiques (en nombre croissant lors de 2ème semaine) (16). Les inclusions cytoplasmiques sont également visibles au niveau pulmonaire et dans les cellules de Küppfer du foie (102).

Récemment, la PCR fit son entrée dans le diagnostic post-mortem avec de bons résultats. Les agneaux utilisés par Stuen et Olsson Engvall étaient âgés de 1 à 6 mois et naturellement décédés, après avoir pâture sur des terrains infestés par les tiques (88).

Le diagnostic nécropsique se basa sur la découverte d'une rate hypertrophiée, puis sur la coloration d'échantillons de rate et enfin sur la PCR à partir de prélèvements de tissu pulmonaire, splénique et de sang coagulé.

Nombre d'agneaux diagnostiqués infectés par la TBF, d'une part par la clinique, d'autre part par la PCR sur différents organes de 1996 à 1998			
année	Nombre total d'animaux étudiés	Diagnostic clinique	Diagnostic par PCR
1996	18	11	11
1997	22	17	21
1998	24	16	22
Total	64	44	54

COMPARAISON DE LA CLINIQUE ET DE LA PCR EN RELATION AVEC LE DIAGNOSTIC POST MORTEM DE LA TBF SUR DES AGNEAUX			
	PCR positive	PCR negative	Total
Clinique positive	43	1	44
Clinique negative	11	9	20
Total	54	10	64
Sensibilité: 0.80	Valeur prédictive positive: 0.98	K (kappa): 0.50	
Spécificité: 0.90	Valeur prédictive négative: 0.45		

Les résultats de leurs investigations montrent que 80% des agneaux positifs par PCR avaient une rate augmentée de volume.

Ils montrent également la difficulté d'interprétation des calques d'organes à cause de l'autolyse (72%).

Les auteurs décrivent, enfin, la contamination par d'autres pathogènes de la très grande majorité des agneaux autopsiés.

En effet, 93 % des agneaux positifs pour *A. phagocytophilum* étaient atteints par un deuxième germe.

DIAGNOSTIC DE LA TBF SUR DES AGNEAUX BASÉ SUR 55 CAS POST MORTEM		
DIAGNOSTIQUE DE TBF	NOMBRE TOTAL	NOMBRE DE CAS AVEC SPLENOMEGALIE
Septicémie ( <i>P. trehalosi</i> )	25	21
Septicémie	7	7
Méningite	1	1
Pleuropneumonie	2	2
Pneumonie ( <i>P. hemolytica</i> )	3	2
Pyémie ( <i>S. aureus</i> )	6	3
Endocardite/Polyarthrite	1	0
Abcès (colonne vertébrale)	1	1
Autres infections	5	4
Putréfiés	4	3
Total	55	44

Les résultats de la PCR après migration par électrophorèse dans un gel d'agarose sont également fournis. Tous les agneaux positifs ayant produit une bande à la hauteur de 619 paires de bases ( 88).

Le diagnostic nécropsique n'apporte pas une aide précieuse au clinicien au premier plan. Il peut permettre, néanmoins, d'appuyer un diagnostic de suspicion et de confirmer celui-ci par des prélèvements à fin d'analyses bactériologiques.

La PCR applicable aux prélèvements tissulaires montre une très bonne efficacité mais reste d'un coût très élevé.

## E. DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL

Le diagnostic différentiel de l'anaplasmose granulocytaire prend en compte les autres maladies transmises par les tiques et les maladies « pseudogrippales ».

*A. phagocytophilum* pouvant être considéré comme un germe sous-jacent, la difficulté est de suspecter sa présence lors de complications par les germes classiques. Le diagnostic différentiel peut se faire au niveau épidémiologique, clinique ou en laboratoire.

### 1. Maladies transmises par les tiques

Lorsque l'épidémiologie permet d'envisager une affection due aux tiques, l'anaplasmose granulocytaire est à différencier de la piroplasmose et de la borreliose, toutes deux transmises par *I. ricinus*.

Ces deux maladies peuvent se rapprocher de l'anaplasmose granulocytaire dans leurs manifestations sub-cliniques, en tout cas atténuées.

La piroplasmose à *B. divergens* provoque, lors d'atteinte aiguë, un syndrome beaucoup plus violent que l'anaplasmose granulocytaire avec une mortalité très élevée. L'hémoglobinurie n'existe pas lors d'anaplasmose granulocytaire, la piroplasmose ne touche que les bovins sous nos latitudes.

La borréliose de Lyme à *Borrelia burgdorferi* montre une prévalence beaucoup plus faible que la piroplasmose dans nos régions. Elle peut se manifester par un syndrome proche de l'anaplasmose granulocytaire et présente souvent des complications proches de celles de l'anaplasmose granulocytaire. La borréliose peut être suivie par des encéphalites, polyarthrites, pneumonie interstitielle et des avortements.

L'examen microscopique du sang permet de mettre en évidence *Babesia divergens* alors que la sérologie est le meilleur moyen de détecter *Borrelia burgdorferi* (75).

## **2. Affections respiratoires et avortements**

On peut opposer la présence dans un élevage d'affections respiratoires primitives ou d'avortements à leur présence comme complications de l'anaplasmose granulocytaire.

Le diagnostic de ces affections respiratoires à virus respiratoire syncytial bovin, à *Parainfluenza* III ou à *Pasteurella* sp. par exemple peut être compliqué par la présence d'*A. phagocytophilum*.

Il en est de même lors d'avortement dus à la Fièvre Q, aux *Chlamydia* sp., aux *Leptospires* ou à *Actinomyces* sp., par exemple.

L'enquête épidémiologique est le point de départ du diagnostic différentiel.

## **VI. PRONOSTIC - TRAITEMENT**

### **A . PRONOSTIC**

De manière générale, le pronostic vital de l'anaplasmose granulocytaire est toujours bon au niveau individuel. En revanche, le pronostic au niveau du groupe peut être plus défavorable en terme économique.

### **1. Clinique**

Le pronostic individuel est donc favorable chez les animaux adultes en bonne santé, mais il peut être moins favorable dans certains cas qui mettent en jeu le statut immunitaire et le stade biologique de l'animal, ainsi que les conditions d'élevage.

#### **a. Stade biologique**

L'âge des animaux atteints est essentiel. Nous avons vu qu' *Anaplasma phagocytophi-*

*lum* pouvait infecter les très jeunes animaux comme les adultes, mais le pronostic est plus sombre chez les jeunes.

Il a été décrit une augmentation de la mortalité chez les agneaux allaités (11)(81) en raison de leur difficulté à suivre leur mère, la chute marquée de l'appétit et de la capacité de succion.

L'autre cas particulier de sensibilité accrue à la maladie est la gestation. En effet, l'anaplasmose granulocytaire peut être cause d'avortement et de mortinatalité de manière très prononcée, entraînant la perte du fœtus, bien sûr, mais également des complications pour la mère avant ou lors du part (45)(68).

Les données rapportées par Jones et Davies en 1995 (45) sont de 91 % d'avortements et 20 % de mortalité chez des brebis, et ce, malgré la mise en place rapide d'un traitement. Wilson *et coll.* quant à eux relatent 28 avortements sur 120 vaches pleines (100).

## **b. Statut immunitaire et immunodépression**

Les épisodes dramatiques d'apparition de la maladie sont liés à la présence d'animaux infestés pour la première fois.

La protection apportée par l'immunité suivant une première infestation, certes discutée pour les différentes souches d'*Anaplasma phagocytophilum*, montre une efficacité au moins partielle lors de réinfestation.

Le pronostic est donc beaucoup plus favorable chez des animaux élevés en zone d'endémie subissant des réinfestations fréquentes (112).

Le statut immunitaire des mères est également important pour la transmission des anticorps colostraux. Brodie a montré qu'une hyperimmunisation des brebis pouvait diminuer l'atteinte des agneaux (11).

Le deuxième aspect de l'immunité à envisager est l'immunosuppression induite qui intervient à deux niveaux.

Premièrement, elle diminue la réponse vaccinale des animaux atteints, comme cela a été montré par Batungbacal et Scott en 1982 (7) lors de la vaccination de moutons contre *Clostridium chauvei*.

Deuxièmement, nous avons vu que les animaux atteints étaient beaucoup plus sensibles aux affections intercurrentes (6)(15)(35)(55).

### **c. Conditions d'élevage**

Comme pour toute maladie touchant les ressources immunitaires, les mauvaises conditions d'élevage augmentent les risques de mortalité.

Les conditions climatiques difficiles peuvent avoir une grande influence, en particulier sur les jeunes au pâturage.

A l'opposé, l'ambiance de certains bâtiments due à une mauvaise aération (augmentation de l'humidité ou au contraire : courants d'air) ou à une surpopulation peuvent faciliter l'apparition de complications pulmonaires (6)(55).

## **2. Epidémiologie**

Le critère essentiel du pronostic épidémiologique est l'introduction ou non d'animaux naïfs sur des pâtures infestées.

L'introduction d'animaux particulièrement sensibles (gestation, jeunes) accroît encore les risques de mortalité (11) ou, en tout cas, d'expression accrue de la maladie (81).

Le risque épidémiologique est également accru lorsque d'autres germes sont présents de manière endémiques au sein d'un élevage (BVD-MD (102), *Chlamydia sp.* (55)...).

Dans ces cas précis, la morbidité de la maladie peut être élevée (100)(45).

Au niveau local, la détection de cas d'anaplasmose granulocytaire peut signifier la contamination d'autres troupeaux par l'intermédiaire d'une augmentation de la prévalence du germe chez *Ixodes ricinus*.

## **3. Economique**

Le pronostic économique est l'intérêt essentiel de la maladie car une enzootie peut laisser beaucoup de traces au sein d'un élevage.

La perte significative de poids ou plus exactement les forts retards de croissance chez les jeunes (87)(89) ainsi que la chute marquée et durable de production laitière chez les femelles adultes (21) peut amener à de sévères pertes économiques (11)(96).

Cranwell et Gibbons décrivent, en 1986, un épisode d'anaplasmose granulocytaire dans un troupeau de 72 vaches en lactation qui entraîna la perte estimée de 4300 litres de lait, et Todd rapporte en 1984, la perte de 2500 litres dans un troupeau de 86 vaches (21).

## B. TRAITEMENT

### 1. Spécifique

#### a. Sensibilité in vitro (13)

Les bactéries du genre *Anaplasma* montrent une sensibilité très variable aux antibiotiques. Les deux antibiotiques agissant sur la majeure partie d'entre elles sont les tétracyclines et la rifampicine.

L'agent de Ehrlichiose Granulocytaire Humaine qui est très proche d'*A. phagocytophilum* est sensible à la doxycycline et à certaines quinolones fluorées.

En revanche, les *Anaplasma sp.* sont résistants aux pénicillines et céphalosporines, aux macrolides et lincosamides, aux aninosides.

#### b. Antimicrobiens utilisables

*A. phagocytophilum* est un parasite intracellulaire gram négatif, les antibiotiques utilisés doivent donc être capables de traverser les membranes cellulaires.

#### Sulfonamides potentialisés

Les sulfamides ne sont pas rickettsiostatiques. Néanmoins, leur potentialisation par le trimétoprim ou l'aditoprim, agents qui traversent bien les membranes cellulaires, a été testée (3) (49). Ainsi Anika *et coll.* (3) utilisèrent une combinaison de trimétoprim (20 mg/kg), sulfadimidine (50 mg/kg) et sulfaméthylphénazole (50 mg/kg) par voie I.V.. L'essai, prenant comme critère principal d'efficacité la température rectale, fut effectué sur des chèvres adultes. L'addition de deux sulfamides se justifiait par le temps de demi-vie plasmatique court de la sulfadimidine et celui plus long du sulfaméthylphénazole. L'examen des températures rectales après la première injection montra une bonne efficacité. Cette efficacité étant attribuée, par les auteurs, avant tout au trimétoprim .

D'autres essais, menés par Van Miert *et coll.* (49), testèrent l'efficacité du trimétoprim et de l'aditoprim, employés seuls chez des chèvres adultes.

Le trimétoprim et l'aditoprim sont des inhibiteurs de la dihydrofolate réductase. L'aditoprim présentant un temps de demi-vie plus long chez les herbivores ainsi qu'un caractère plus lipophile que le trimétoprim. De même que pour les essais précédents, la température rectale était le critère majeur d'évaluation de l'efficacité, la numération leucocytaire ainsi que l'activité de la phosphatase alcaline sérique étant également pris en compte.

La conclusion de cet essai est que le trimétoprim et l'aditoprim n'ont aucune efficacité sur *A. phagocytophilum in vivo*.

### Oxytétracycline

L'oxytétracycline est actuellement l'antibiotique de choix chez les ruminants. Cet antibiotique de la famille des tétracyclines est lipophile ce qui lui permet une action intracellulaire et possède un spectre large. C'est un antimicrobien bactériostatique qui agit par inhibition de la synthèse protéique des germes en division (29).

Il peut être utilisé sous trois formes : son chlorhydrate associé à un excipient classique et la base ou son sel dihydraté associés à un excipient retard.

La première présentation confère à l'antibiotique une efficacité de 24 heures, alors que la deuxième présentation (base ou dihydraté) permet de maintenir une concentration suffisante pendant 3 à 5 jours. La posologie recommandée est de 5 à 10 mg/kg, renouvelée 3 à 4 fois à 24 heures d'intervalle pour le chlorhydrate d'oxytétracycline et de 20 mg/kg renouvelable à 3 ou 4 jours, pour la forme retard (95).

Les traitements proposés par les auteurs sont variables. Néanmoins, tous s'accordent en faveur de la forme à action courte pour le traitement de la phase aiguë, car elle permet d'obtenir une concentration forte, plus rapidement, en particulier grâce à la voie intraveineuse. Les auteurs décrivent une seule injection de cette forme chez les ovins (3)(82)(81) comme étant satisfaisante, alors que les traitements menés chez les bovins envisagent 3 à 4 injections consécutives (4)(44)(112).

### Autres antibiotiques

L'étude de la sensibilité *in vitro* et les traitements mis en œuvre montrent que l'agent de l'EGH est sensible à des fluoroquinolones, telles que l'ofloxacine, la ciprofloxacine et la trovafloxacine (13).

En médecine vétérinaire, l'ehrlichiose monocytique du chien (*E. canis*) est traitée avec succès par l'enrofloxacine (5 mg/kg/jour, pendant 15 jours) (50).

Etant donné la très grande similitude existant entre *A. phagocytophilum* et l'agent de l'EGH, il serait intéressant de tester l'efficacité des fluoroquinolones vétérinaires récentes dans le traitement de l'ehrlichiose des ruminants.

## **2. Adjuvant**

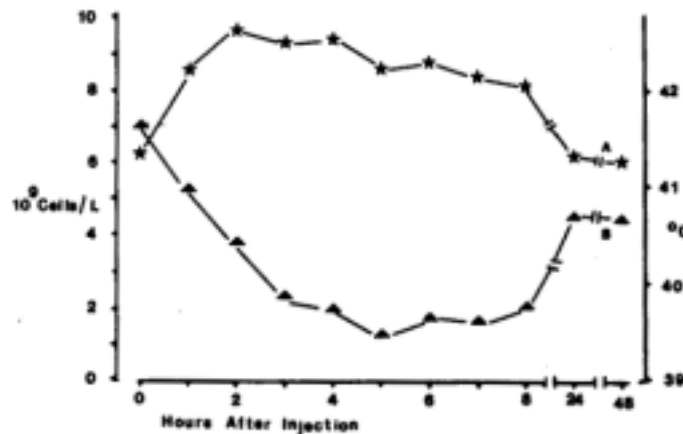
L'un des facteurs importants de la phase aiguë est l'hyperthermie marquée, en partie due à la production de PGE<sub>2</sub> (95). L'abattement des animaux ainsi que la baisse de motilité ruminale sont liés à l'hyperthermie.

L'intérêt des molécules anti-inflammatoires non stéroïdiennes qui inhibent la synthèse des prostaglandines est donc à étudier mais aucune donnée n'est actuellement disponible à notre connaissance.



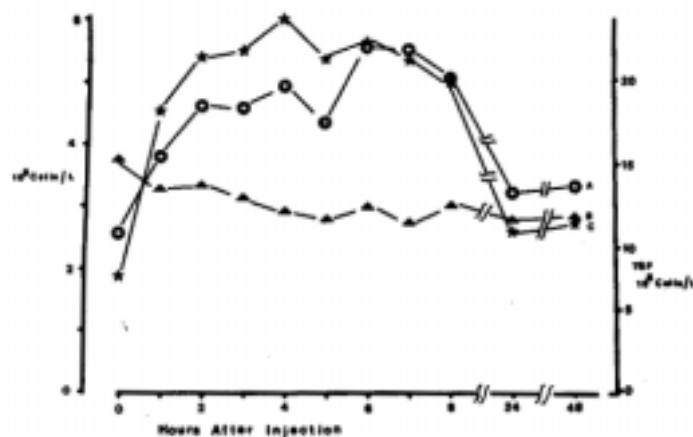
Les anti-inflammatoires stéroïdiens représentent l'autre alternative. Il a été rapporté que leur utilisation à dose immunosuppressive favorisait l'apparition de rechutes (Foggie et Hood, 1961; Scott, 1978).

Leurs effets dans le traitement de la phase aiguë ont été étudiés par Woldehiwet en 1982 (104). L'auteur injecte à des moutons adultes infectés de la bétaméthasone, soit à la dose immunosuppressive de 1 mg/kg, soit à la dose thérapeutique de 10 mg par animal, et ce, au 2ème jour de parasitémie en une seule injection. Les résultats de l'essai sont presque identiques à la dose immunosuppressive et à la dose thérapeutique classique. Ils consistent en une baisse marquée de la température rectale qui revient pratiquement à son niveau d'origine en 24 heures, en un accroissement du nombre total de leucocytes et du nombre de granulocytes .



Moyenne des leucocytes (A) et de la température rectale (B) chez des moutons infectés traités par de la bétaméthasone, d'après (104).

Le nombre total de lymphocytes ne diminue pas de manière significative et le nombre de cellules infectées augmente de manière importante pour revenir à un niveau d'origine en 24 heures.



Moyenne du nombre de cellules infectées (A), de lymphocytes (B) et de granulocytes (C) chez des moutons infectés traités par de la bétaméthasone, d'après (104).

Woldehiwet rapporte, enfin, que le pourcentage de cellules infectées diminue par rapport au nombre total de granulocytes.

## VII. PROPHYLAXIE

### A. SANITAIRE

#### 1. Lutte contre le vecteur

La lutte contre la tique *I. ricinus* revêt un aspect biologique et zootechnique ainsi qu'un aspect clinique.

##### a. Lutte biologique et zootechnique

Dans l'écosystème des hôtes, la tique *I. ricinus* infecte une niche écologique très précise. Un des aspects de la lutte consiste donc à éviter la fréquentation des lieux de vie de la tique par l'hôte. En pratique :

- utiliser les pâtures les moins humides en début et fin de saison de pâturage ;
  - tenir les animaux à distance des zones humides et boisées bordant certaines parcelles grâce aux clôtures ;
  - utiliser la rotation des pâtures pour mettre en contact avec les tiques les animaux les moins susceptibles, tels que les jeunes et adultes non gestants, ne produisant pas de lait ;
  - diminuer la densité d'animaux sur les parcelles ;
- représentent des mesures zootechniques pouvant diminuer l'incidence de la contamination (61)(96).

A ces mesures peuvent s'ajouter des modifications de l'écosystème en lui-même telles que l'entretien des sous-bois par la destruction de la végétation maintenant l'humidité et l'ombre, la réduction des parties boisées bordant les parcelles pâturées et enfin l'assèchement des parties les plus humides (61).

Dans certains pays (Etats-Unis, Afrique), il a été tenté de contrôler la population de tiques grâce à des prédateurs tels que les oiseaux, les rongeurs ou les fourmis, mais ces mesures sont difficiles à mettre en œuvre.

Toutes ces mesures peuvent être gradées en facilité d'application, temps et argent. Certaines pouvant être indispensables en zone d'endémie alors qu'ailleurs elles seront avantageusement remplacées par la lutte clinique.

##### b. Lutte clinique

La lutte clinique distingue l'éradication des tiques dans l'environnement et sur l'hôte.

La lutte par l'usage d'acaricides dans la nature ne peut être mise en œuvre que dans des zones restreintes et très infestées, de part son coût et la pollution qu'elle induit (96). Elle peut être utile dans le traitement de bâtiments fréquentés durant le pâturage (stabulations ouvertes

ou bergeries d'estive).

La lutte clinique peut également s'appliquer aux animaux eux-mêmes. C'est certainement le moyen le plus utilisé et de nombreuses présentations sont commercialisées.

Les acaricides agissent soit localement, par pulvérisations ou bains, soit par voie transcutanée en « pour on », soit enfin, par voie systémique sous forme d'injections, de bolus intraruminal ou de « pour on ».

Les dernières molécules apparues annoncent des rémanences de plusieurs semaines (95).

On peut noter que l'application d'acaricides prend de l'importance chez certaines populations. Les jeunes agneaux sont particulièrement sensibles à la pyohémie à tiques, qu'assombri le pronostic de l'anaplasmose granulocytaire et réciproquement. L'usage d'acaricides lors de la mise à l'herbe renouvelée au cours de la saison de pâturage, diminue l'incidence de ces maladies de manière significative (11).

L'usage d'acaricides est également bénéfique chez les animaux naïfs ou gestants.

## **2. Lutte contre le réservoir**

Le réservoir étant représenté vraisemblablement par les ruminants sauvages, mais également par les ovins, la lutte contre la première population, aussi bien que contre le portage chronique par la seconde, reste illusoire.

## **B. MEDICALE**

### **1. Antibiotiques**

La prophylaxie médicale n'est pas un substitut à la prophylaxie sanitaire mais elle peut constituer un supplément lors de périodes à risques ou pour des populations sensibles (61).

L'emploi d'oxytétracycline à action retard, est largement décrit en injections intramusculaires à la dose de 20 à 40 mg/kg (10)(11)(22)(82)(96).

Les interrogations portent sur le rythme d'administration aux populations visées, ainsi que sur l'incidence de cette prophylaxie sur des rechutes et la mise en place d'une immunité (13).

Brodie *et coll.* rapportent, en 1986, l'intérêt d'une injection intramusculaire d'oxytétracycline longue action (40 mg/kg) sur des agneaux de deux à trois semaines, en zone infestée par les tiques (11).

Les agneaux de deux à six semaines sont, en effet, très sensibles à la pyohémie à tiques (*S. Aureus*) et à la pasteurellose (*P. haemolytica A1*). L'oxytétracycline ayant une activité vis à vis de ces deux germes, l'effet bénéfique est significatif pour le gain de poids des agneaux.

Ce résultat obtenu par Brodie *et coll.* est également dû au fait que les agneaux nouveaux-nés et leurs mères recevaient un acaricide en « pour-on ». En effet, la rémanence de l'oxytétracycline, même longue action n'excède pas 5 jours.

La durée d'action de l'antibiotique ne permet pas d'envisager une réelle prophylaxie de l'anaplasmose granulocytaire sur la période d'activité des tiques. On sait qu'effectivement, chez les bovins, l'injection d'oxytétracycline prévient l'apparition de l'anaplasmose granulocytaire pendant 5 jours (112).

Toutefois, Brodie *et coll.* décrivent en 1988 (11) un allongement de l'effet protecteur en utilisant sur des ovins la dose de 40 mg/kg, la durée d'action s'étendant jusqu'à 15 jours après l'injection.

Cette rémanence limite l'emploi à un moment donné sur une population à risque, lors de la découverte d'un premier cas sur une parcelle par exemple.

L'emploi des antibiotiques peut également diminuer la gravité d'une première infestation, sachant que les suivantes seront, de toutes manières, moins sévères et donc être utile en début de pâturage en zone d'endémie.

En dernier lieu, Cranwell effectua un essai en 1988 sur vingt-six vaches qui montra que les animaux traités avec de l'oxytétracycline longue action les septième, quatorzième, vingt et unième et vingt huitième jours (et subissant une contamination par *A. phagocytophilum* durant tout l'essai) ne développaient pas d'anticorps vis à vis d'*A. phagocytophilum* (sauf un).

Cranwell suggère que deux injections à 10 et 20 jours pourraient permettre l'immunisation des animaux et éviter l'expression aiguë de la maladie durant les 60 jours de l'essai.

## **2. Vaccin**

La découverte d'un vaccin contre *A. phagocytophilum* fait partie des axes de recherche (25)(112). Une connaissance bien plus approfondie du rôle de l'immunité humorale et cellulaire est nécessaire. La grande variabilité antigénique des souches ainsi que le manque de caractérisation de ces antigènes ne permettent pas d'envisager une vaccination dans un avenir proche.

## CONCLUSION

L'étude d'*Anaplasma phagocytophilum* biovar Phagocytophilum met en évidence plusieurs éléments importants. Son rôle pathogène, certes modéré au niveau de l'individu, peut se révéler significatif à l'échelle du troupeau. De surcroît, le peu d'intérêt que lui portent les praticiens masque certainement une incidence non négligeable.

Il en ressort que les pertes économiques occasionnées par *Anaplasma phagocytophilum* mériteraient une meilleure sensibilisation des acteurs de l'élevage.

La pathologie frustrante chez les ruminants et son évolution à bas bruit compliquent le diagnostic clinique et imposent la mise en oeuvre d'examens de laboratoire qui se doivent d'être simples, économiques et fiables. C'est idéalement la place que doit prendre à l'avenir la P. C. R. pour systématiser la recherche et l'identification précise de la bactérie.

Enfin, le caractère zoonotique de l'infection à *Anaplasma phagocytophilum* lui confère un attrait supplémentaire même s'il est difficile de présumer de son incidence dans les années à venir.



Direction de l'Enseignement et de la Vie Universitaire

AGREMENT ADMINISTRATIF

Je soussigné, P. DESNOYERS, Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que **M. CHEVALIER Sébastien, Patrice, Christian** a été admis sur concours en 1991  
a obtenu son certificat de fin de scolarité le 22 septembre 1995  
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

Je soussigné, J. EUZEBY, Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, autorise la soutenance de la thèse de :

**M. CHEVALIER Sébastien, Patrice, Christian**

intitulée:

« Contribution à l'étude des infections à *Anaplasma phagocytophilum* chez les ruminants domestiques »

Le Professeur  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
Professeur Jean EUZEBY

Vu :  
Le Président de la thèse :  
Professeur Elisabeth ARLET-SUAU

Professeur E. ARLET - SUAU  
Service de Médecine Interne  
CLINIQUE DIEULAFOY  
HOPITAL PURPAN  
F - 31059 TOULOUSE CEDEX

Vu :  
Le Directeur  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
Docteur Pierre DESNOYERS



Vu le : 07 OCT 2002  
Le Président  
de l'Université Paul Sabatier  
Professeur Raymond BASTIDE



## BIBLIOGRAPHIE

- 1 - A.J. ALANI, J. KONRAD, I.V. HERBERT.  
Serodiagnosis of *Babesia motasi* (Wales), *Theileria recondita* (Wales) and *Cytoecetes phagocytophila* infection in sheep.  
Research in Veterinary Science, 1987, 43 : 104-108.
- 2 - M.P. ALBERDI, A. R. WALKER, E.A. PAXTON, K.J. SUMPTION.  
Natural prevalence of infection with *Ehrlichia (Cytoecetes) phagocytophila* of *Ixodes ricinus* ticks in Scotland.  
Veterinary Parasitology, 1998, 78 : 203-213.
- 3 - S.M. ANIKA, J.F.M. NOUWS, H. VAN GOGH, J. NIEUWENHUIJS, T.B. VREE, A.S.J.P.A.M. VAN MIERT.  
Chemotherapy and pharmacokinetics of some antimicrobial agents in healthy dwarf goats and those infected with *Ehrlichia phagocytophila* (tick-borne fever).  
Research in Veterinary Science, 1986, 41 : 386-390.
- 4 - G. ARGENTE, E. COLLIN, H. MORVAN.  
Ehrlichiose bovine (fièvre des pâtures) : une observation en France.  
Point Vétérinaire, 1992, 144 : 89-90.
- 5 - M.R. BATUNGBACAL, G.R. SCOTT.  
The lymphocytopaenia in tick-borne fever.  
Journal of Comparative Pathology, 1982, 92 : 403-407.
- 6 - M.R. BATUNGBACAL, G.R. SCOTT.  
Tick-borne fever and concurrent *parainfluenza* -3 virus infection in sheep.  
Journal of Comparative Pathology, 1982, 92 : 415-428.
- 7 - M.R. BATUNGBACAL, G.R. SCOTT.  
Suppression of the immune response to clostridial vaccine by tick-borne fever.  
Journal of Comparative Pathology, 1982, 92 : 409-413.
- 8 - B.U BAUMGARTEN, M. RÖLLINGHOFF, C. BOGDAN.  
Prevalence of *Borrelia burgdorferi* and granulocytic and monocytic Ehrlichiae in *Ixodes ricinus* ticks from Southern Germany.  
Journal of Clinical Microbiology, 1999, 37 : 3448-3451.
- 9 - C. BERTHOLOM.  
Actualités sur les infections transmises par les tiques.  
(D'après des communications de C. PEREZ, B. GILOT, S. RAOULT, P. BROUQUI)  
OPTION BIO, 02/10/1998, 215 : 3-5.
- 10 - T.A. BRODIE, P.H. HOLMES, G.M. URQUHART.  
Prophylactic use of long-acting tetracycline against tick-borne fever (*Cytoecetes phagocytophila*) in sheep.  
The Veterinary Record, 1988, 122 : 43-44.

- 11 - T.A. BRODIE, P.H. HOLMES, G.M. URQUHART.  
Some aspects of tick-borne diseases of British sheep.  
The Veterinary Record, 1986, 118 : 415-418.
- 12 - P. BROUQUI.  
L'ehrlichiose humaine. Une maladie infectieuse émergente.  
Médecine et Maladies Infectieuses, 1997, 27 : 256-266.
- 13 - P. BROUQUI, D. RAOULT.  
*Ehrlichia*, Ehrlichioses.  
Encyclopédie Médicale, Editions Elsevier Paris, Maladies infectieuses, 1998.
- 14 - H.BRUN-HANSEN, H. GRONSTOL, F. HARDING.  
Experimental infection with *Ehrlichia phagocytophila*.  
British Cattle Veterinary Association, 1996, 2 : 477-481.
- 15 - H.BRUN-HANSEN, D.A. CHRISTENSSON, F. HARDENG, H. GRØNSTØL.  
Experimental infection with *Ehrlichia phagocytophila* and *Babesia divergens* in cattle.  
Journal of Veterinary Medicine B., 1997, 44 : 235-243.
- 16 - R.S.F. CAMPBELL, A.C. ROWLAND, G.R. SCOTT.  
Sequential pathology of tick-borne fever.  
Journal of Comparative Pathology, 1994, 111 : 303-313.
- 17 - R.S.F. CAMPBELL.  
Pathogenesis and pathology of the complex rickettsial infections.  
Veterinary Bulletin, 1994, 64 : 1-24.
- 18 - M. CINCO.  
Coexistence of *Ehrlichia phagocytophila* and *Borrelia burgdoferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks from Italy as determined by 16S rRNA gene sequencing.  
Journal of Clinical Microbiology, 1997, 35 : 3365-3366.
- 19 - S.M. CHEN, J.S. DUMLER, J.S. BASSEN, D.H. WALKER.  
Identification of a granulocytotropic *Ehrlichia* species as the etiologic agent of human disease.  
Journal of Clinical Microbiology, 1994, 32 : 589-595.
- 20 - J.D. COLLINS, J. HANNAN, A.R. FERGUSON, J.O. WILSON.  
Tick-borne fever in Ireland.  
Irish Veterinary Journal, 1970, 24 : 162-166.
- 21 - M.P. CRANWELL, J.A. GIBBONS.  
Tick-borne fever in a dairy herd.  
The Veterinary record, 1986, 119 : 531-532.



- 22 - M.P. CRANWELL.  
Efficacy of long-acting oxytetracycline for the prevention of tick-borne fever in calves.  
The Veterinary Record, 1990, 126 : 334-336.
- 23 - B. DAVOUST, D. PARZY.  
Actualités des ehrlichioses.  
Bulletin Société Vétérinaire Pratique de France, 1995, 79 : 183-204.
- 24 - J.E. DAWSON, C.K. WARNER, S.A. EWING, S.R. TELFORD, R.E. CORSTVET, R. BRENNAN, J.G. OLSON.  
Fingerprinting of *Ehrlichia* species by repetitive element polymerase chain reaction.  
American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 1997, 57 : 109-114.
- 25 - J.S. DUMLER, K.M. ASANOVICH, J.S. BAKKEN, P. RICHTER, R. KIMSEY, J.E. MADIGAN.  
Serologic cross-reactions among *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia phagocytophila*, and Human Granulocytic Ehrlichia.  
Journal of Clinical Microbiology, 1995, 33 : 1098-1103.
- 26 - B. FIVAZ, T. PETNEY, I. HORAK.  
Tick vector biology (Medical and veterinary aspects).  
Edition Springer-Verlag, 1991.
- 27 - A. FOGGIE, C.J. ALLISON.  
A note on the occurrence of tick-borne fever in cattle in Scotland with comparative studies of bovine and ovine strains of the organism.  
The Veterinary Record, 1960, 72 : 767-770.
- 28 - A. FOGGIE, C.S. HOOD.  
Adaptation of the infectious agent of tick-borne fever to Guinea-pigs and mice.  
Journal of Comparative Pathology, 1961, 71 : 414-427.
- 29 - M. FONTAINE, J.L. CADORE.  
Vadé-mécum du Vétérinaire. 16ième édition. Edition Vigot, 1995 : 120-207.
- 30 - W.N.M. FOSTER, A.E. CAMERON.  
Thrombocytopenia in sheep associated with experimental tick-borne fever infection.  
Journal of Comparative Pathology, 1968, 78 : 251-254.
- 31 - W.N.M. FOSTER, A.E. CAMERON.  
Observation on ovine strains of tick-borne fever.  
Journal of Comparative Pathology, 1970, 80 : 429-436.
- 32 - W.N.M. FOSTER, J.C. CREIG.  
Isolation of tick-borne fever from feral goats in New Galloway.  
The Veterinary Record, 1969, 85 : 585-586.

- 33 - W.N.M. FOSTER, A. FOGGIE, D.I. NISBET.  
Haemorrhagic enteritis in sheep experimentally infected with tick-borne fever.  
Journal of Comparative Pathology, 1968, 78 : 255.
- 34 - B. GILOT, C. PEREZ-EID.  
Bio-écologie des tiques induisant les pathologies les plus importantes en France.  
Médecine et Maladies Infectieuses, 1998, 28 : 325-334.
- 35 - H.I. GOKCE, Z. WOLDEHIWET.  
*Ehrlichia (Cytoecetes) phagocytophila* predisposes to severe contagious ecthyma (Orf) in lambs.  
Journal of Comparative Pathology, 1999, 121 : 227-240.
- 36 - H.I. GOKCE, G. ROSS, Z. WOLDEHIWET.  
Inhibition of phagosome-lysosome fusion in ovine polymorphonuclear leucocytes by *Ehrlichia (Cytoecetes) phagocytophila*.  
Journal of Comparative Pathology, 1999, 120 : 369-381.
- 37 - H.I. GOKCE, Z. WOLDEHIWET.  
The effects of *Ehrlichia (Cytoecetes) phagocytophila* on the clinical chemistry of sheep and goats.  
Journal of Veterinary Medicine and Biology, 1999, 46 : 93-103.
- 38 - W.S. GORDON, A. BROWNLEE, D.R. WILSON, J. Mac LEOD.  
Tick-borne fever.(A hitherto undescribed disease of sheep).  
Journal of Comparative Pathology, 1932, 45 : 301-312.
- 39 - D. GRAY, K. WEBSTER, J.E. BERRY.  
Evidence of louping ill and tick-borne fever in goats.  
The Veterinary Record, 1988, 122 : 66.
- 40 - A. GREIG, N.S.M. Mac LEOD, C.J. ALLISON.  
Tick-borne fever in association with mucosal disease and cobalt deficiency in calves.  
The Veterinary Record, 1977, 100 : 562-564.
- 41 - F. HARDENG.  
A modification of the indirect immunofluorescence test for detection of *Ehrlichia phagocytophila* antibodies.  
Acta Veterinaria Scandinavica, 1991, 32 : 499-502.
- 42 - J.D. HOSKINS.  
Tick-transmitted diseases.  
Veterinary Clinics of North America, 1991, 21 : 1-27.

- 43 - K.E. JOHANSSON, B. PETTERSSON, M. UHLÉN, A. GUNNARSSON, M. MALMQVIST, E. OLSSON.  
Identification of the causative agent of granulocytic ehrlichiosis in swedish dogs and horses by direct solid phase sequencing of PCR products from the 16 S rRNA gene.  
Research in Veterinary Science, 1995, 58 : 109-112.
- 44 - G. JONCOUR, G. ARGENTÉ, L. GUILLOU.  
Un épisode d'ehrlichiose dans un troupeau laitier.  
Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires, 2000, 5 : 309-314.
- 45 - G.L. JONES, I.H. DAVIES.  
An ovine abortion storm caused by infection with *Cytoecetes phagocytophila*.  
The Veterinary Record, 1995, 136 : 127.
- 46 - F. JONGEJAN, L.A. WASSINK.  
Lack of cross-protection between *Cowdria ruminantium* and *Ehrlichia phagocytophila*.  
Revue Elevage et Medecine Vetérinaire des Pays Tropicaux, 1991, 44 : 425-428.
- 47 - F. JONGEJAN, L.A. WASSINK, M.J.C. THIELEMANS, N.M. PERIE, G. UILEN BERG.  
Serotypes in *Cowdria ruminantium* and their relationship with *Ehrlichia phagocytophila* determined by immunofluorescence.  
Veterinary microbiology, 1989, 21 : 31-40.
- 48 - R.A. JUSTE, G.R. SCOTT, E.A. PAXTON, J.L. GELABERT, S. JIMÉNEZ.  
Presence of *Cytoecetes phagocytophila* in an atypical disease of cattle in Spain.  
The Veterinary Record, 1989, 124 : 636.
- 49 - N.W. KNOPPERT, S.M. NIJMEIJER, C.T.M. VAN DUIN, C. KORSTANJE, H. VAN GOGH, A.S.J.P.A.M. VAN MIERT.  
Some pharmacokinetic data of aditoprim and trimethoprim in healthy and tick-borne fever infected dwarf goats.  
Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 1988, 11 : 135-144.
- 50 - V.I. KONTOS, L.V. ATHANASIOU.  
Use of enrofloxacin in the treatment of acute canine ehrlichiosis.  
Canine Practice, 1998, 23 : 10-14.
- 51 - H.J.S. LARSEN, G. ØVERNES, H. WALDELAND, G.M. JOHANSEN.  
Immunosuppression in sheep experimentally infected with *Ehrlichia phagocytophila*.  
Research in Veterinary Science, 1994, 56 : 216-224.
- 52 - J. LIZ.  
Enquête sur l'ehrlichiose bovine (fièvre des pâtures) en Suisse.  
Swiss Vet 6, 1989, 5 : 7-8.

- 53 - J. Mac LEOD.  
Studies on tick-borne fever in sheep. II.Experiments on transmission and distribution of the disease  
Parasitology, 1936, 28 : 320-329.
- 54 - A. Mac DIARMID .  
Modern trends in animal health and husbandry. Some infectious disease of free-living wild-life.  
Britanic Veterinary Journal, 1965, 121 : 245-257.
- 55 - R. MUNRO, A.R. HUNTER, G. Mac KENZIE, D.A. Mac MARTIN.  
Pulmonary lesions in sheep following experimental infection by *Ehrlichia phagocytophila* and *Chlamydia psittaci*.  
Journal of Comparative Pathology, 1982, 92 : 117-129.
- 56 - V.N. OFFIAH, S. NIJMEIJER, C.T.M. Van DUIN, R.F. WITKAMP, A.S.J.P.A.M. VAN MIERT.  
Effects of *Ehrlichia phagocytophila* infection on serum thyroid hormone concentrations and on antipyrine clearance and metabolite formation in dwarf goats.  
American Journal of Veterinary Research, 1992, 53 : 1357-1360.
- 57 - N.H. OGDEN, Z. WOLDEHIWET, C.A. HART.  
Granulocytic ehrlichiosis : an emerging or rediscovered tick-borne disease ?  
Journal of Medical Microbiology, 1998, 47 : 475-482.
- 58 - P. PANCHOLI, C. P. KOLBERT, P.D. MITCHELL.  
*Ixodes dammini* as a potential vector of human granulocytic ehrlichiosis.  
Journal of Infectious Diseases, 1995, 172 : 1007-1012.
- 59 - E.A. PAXTON, G.R. SCOTT.  
Detection of antibodies to the agent of tick-borne fever by indirect immunofluorescence.  
Veterinary Microbiology, 1989, 21 : 133-138.
- 60 - M.A. PEIRCE, C.C. NORTON, J. DONNELLY.  
The preservation of *Cytoecetes phagocytophila* in liquid nitrogen.  
Research in Veterinary Science, 1974, 16 : 393-394.
- 61 - C. PEREZ-EID, B. GILLOT.  
Les tiques : cycles, habitats, hôtes, rôle pathogène, lutte.  
Médecine et Maladies Infectieuses, 1998, 28 : 335-343.
- 62 - V.L. POPOV, V.C. HAN, S.-M. CHEN, J.S. DUMLER, H.M. FENG, T.G. ANDREA DIS, R.B. TESH, D.H. WALKER.  
Ultrastructural differentiation of the genogroups in the genus *Ehrlichia*.  
Journal of Medical Microbiology, 1998, 47 : 235-251.

- 63 - R.E. PURNELL, E.R. YOUNG, D.W. BROCKLESBY, D.J. HENDRY.  
The haematology of experimentally - induced *B. divergens* and *E. phagocytophila* infections in splenectomised calves.  
The Veterinary Record, 1977, 100 : 4-6.
- 64 - R.E. PURNELL, D.W. BROCKLESBY.  
Isolation of a virulent strain of *Ehrlichia phagocytophila* from the blood of cattle in the Isle of Man.  
The Veterinary Record, 1978, 102 : 552-553.
- 65 - R.E. PURNELL.  
Tick-borne diseases of british livestock.  
Veterinary Medical Review, 1981, 1 : 58-69.
- 66 - N. PUSTERLA , J. BERGER PUSTERLA, U. BRAUN, H. LUTZ.  
Serological, hematologic, and PCR studies of cattle in a area of Switzerland in which tick-borne fever (caused by *Ehrlichia Phagocytolphila*) is endemic.  
Clinical and Diagnostics of Laboratory Immunology, 1998, 5 : 325-327.
- 67 - N. PUSTERLA, J.BERGER PUSTERLA, U. BRAUN, H. LUTZ.  
Experimental cross-infections with *Ehrlichia phagocytophila* and human granulocytic ehrlichia-like agent in cows and horses.  
The Veterinary Record, 1999, 145 : 311-314.
- 68 - N. PUSTERLA, U. BRAUN, C. WOLFENSBERGER, H. LUTZ.  
Intrauterine infection with *Ehrlichia phagocytophila* in a cow.  
The Veterinary Record, 1997,141 : 101-102.
- 69 - N. PUSTERLA, J.B. HUDER, C. LEUTENEGGER, U. BRAUN, J.E. MADIGAN, H. LUTZ.  
Quantitative real-time PCR for detection of members of the *Ehrlichia phagocytophila* genogroup in host animals and *Ixodes ricinus* ticks.  
Journal of Clinical Microbiology, 1999, 37 : 1329-1331.
- 70 - N. PUSTERLA, J.B. HUDER, C. WOLFENSBERGER, H. LUTZ, U. BRAUN.  
Experimental oral transmission of *Ehrlichia phagocytophila* to calves.  
The Veternary Record, 1998, 143 : 250-251.
- 71 - N. PUSTERLA, B. STEIGER, U. SCHORNO, U. BRAUN.  
Auftreten von boviner ehrlichiose im kanton Obwalden.  
Schweiz Arch Tierheilkd, 1997, 139 : 392-396
- 72 - N. PUSTERLA, C. WOLFENSBERGER, H. LUTZ, U. BRAUN.  
Serologische untersuchungen über das vorkommen der bovinen ehrlichiose in den kan tonen Zürich, Schaffhausen, Thurgau, St .Gallen un Obwalden.  
Schweiz Arch Tierheilkd, 1997, 139 : 543-549.

- 73 - N. PUSTERLA, J.B. HUDER, H. LUTZ, U. BRAUN.  
Detection of *Ehrlichia phagocytophila* DNA in *Ixodes ricinus*. tick from areas in Switzerland where. tick-borne fever is endemic.  
Journal of Clinical Microbiology, 1998, 36 : 2735-2736.
- 74 - N. PUSTERLA, C. WOLFENSBERGER, R. GERBER-BRETSCHER, H. LUTZ.  
Comparison of indirect immunofluorescence for *Ehrlichia phagocytophila* and *Ehrlichia equi* in horses.  
Equine Veterinary Journal, 1997, 29 : 490-492.
- 75 - O.M. RADOSTITS, D.C. BLOOD, C.C. GAY.  
Veterinary Medicine, Editions Baillière Tindall, 1994: 906.
- 76 - O.M. RADOSTITS, D.C. BLOOD, C.C. GAY.  
Veterinary Medicine, Editions Baillière Tindall, 1994: 1151.
- 77 - Y. RIKIHISA.  
The tribe Ehrlichieae and ehrlichial diseases.  
Clinical Microbiology Review, 1991, 4 : 286-308.
- 78 - M. RIOCHE.  
Lésions microscopiques de la rickettsiose générale bovine à *Rickettsia (Ehrlichia) bovis* (Donatien et Lestoquard 1936).  
Revue Elevage et Médecine des Pays Tropicaux, 1967, 20 : 415-427.
- 79 - M. RISTIC, C.J. HOLLAND, M. KHONDOWE.  
An overview of research on Ehrlichiosis.  
European Journal of Epidemiology, 1991, 7 : 246-252.
- 80 - M. RISTIC, Y. MOREAU.  
Infections humaines et animales dues à des Rickettsies du genre *Ehrlichia*.  
Science of Veterinary Medicine Comp., 1987, 4 : 89.
- 81 - G.R. SCOTT.  
Tick-borne fever in sheep.  
Diseases of Sheep, 1983 : 101-106.
- 82 - G.R. SCOTT .  
Tick-borne fever and Pasture fever. 1990, 620-621.
- 83 - R.D. SMITH, M. RISTIC.  
Ehrlichiae.  
In « Parasitic protozoa ». Edition Kreier J. P. New York: Academic Press INC., 1977 : 295-328.

- 84 - D.E. SONENSHINE.  
Biology of ticks.  
Oxford Universited Press.1993, 2.
- 85 - C. SREEKUMAR, R. ANANDAN, S. BALASUNDARAM, G. RAJAVELU.  
Morphology and staining characteristics of *Ehrlichia Bovis*.  
Comparative Immunity and Microbiology of Infectious Diseases, 1996, 19 : 79-83.
- 86 - J.R. STOREY, L.A. DOROS-RICHERT, C. GINGRICH-BAKER, K. MUNROE, T.N. MATHER, R.T. COUGHLIN, G.A. BELTZ, C.I. MURPHY.  
Molecular cloning and sequencing of three granulocytic *Ehrlichia* genes encoding high molecular-weight. immunoreactive proteins.  
Infection and Immunity, 1998, 66 : 1356-1363.
- 87 - S. STUEN, F. HARDENG, H.J. LARSEN.  
Resistance to tick-borne fever in young lambs.  
Research in Veterinary science, 1992, 52 : 211-216.
- 88 - S. STUEN, E. OLSSON ENGVALL.  
*Ehrlichia phagocytophila* infection in lambs as a post-mortem diagnostic.  
Rickettsiae and rickettsial diseases at the turn of the third millenium: 406-411.
- 89 - S. STUEN.  
Tick-borne fever in lambs of different ages.  
Acta Veterinaria Scandinavica, 1993, 34 : 45-52.
- 90 - S. STUEN, E. OLSSON ENGVALL, K. ARTURSSON.  
Persistence of *Ehrlichia phagocytophila* infection in lambs in relation to clinical parameters and antibody responses.  
TheVeterinary Record, 1998, 143 : 553-555.
- 91 - S.M. TAYLOR, C. TELLIT, J. KENNY, J. BLANCHFLOWER.  
A comparative investigation of experimental prophylactic methods for tick-borne diseases transmitted by *Ixodes Ricinus*.  
Britanic Veterinary Journal, 1986, 142 : 453-458.
- 92 - G.C. TROY, S.D. FORRESTER.  
Canine Ehrlichiosis .  
Infections diseases of the dog and cat, GREENE, 1990.
- 93 - J. TUOMI, C.H. VON BONSDORFF.  
Electron microscopy of tick-borne fever agent in bovine and ovine phagocytizing leukocytes.  
Journal of Bacteriology, 1966, 92 : 1478-1492.
- 94 - J.B. TUTT, C. LOVING.  
Tick-borne fever in dairy cattle.  
The Veterinary Record, nov. 1955.

- 95 - A.S.J.P.A.M. VAN MIERT, C.T.M. VAN DUIN, A.J.H. SCHOTMAN, F.F. FRANS  
SEN.  
Clinical, haematological and blood biochemical changes in goats after experimental  
infection with tick-borne fever.  
Veterinary Parasitology, 1984, 16 : 225-233.
- 96 - M. VAUGHAN.  
Control of tick-borne disease in cattle.  
In Practice, 1988, 10 : 79-84.
- 97 - K.A. WEBSTER, G.B.B. MITCHELL.  
Use of counter immunoelectrophoresis in detection of antibodies to tick-borne fever.  
Research in Veterinary Science 1988, 45 : 28-30.
- 98 - K.A. WEBSTER, G.B.B. MITCHELL.  
An electron microscopic study of *Cytoecetes phagocytophila* infection in *Ixodes ricinus*.  
Research in Veterinary Science, 1989, 47 : 30-33.
- 99 - M.Y. WELLS, Y. RIKIHISA.  
Lack of lysosomal fusion with phagosomes containing *Ehrlichia risticii* in  
P388D cells : abrogation of inhibition with oxytetracycline.  
Infection and Immunity, 1988, 56 : 3209-3215.
- 100 - J.C. WILSON, A. FOGGIE, M.A. CARMICHAEL.  
Tick-borne fever as a cause of abortion and stillbirths in cattle.  
The Veterinary record, 1964, 76 : 1081-1084.
- 101 - Z. WOLDEHIWET.  
Lymphocyte subpopulations in peripheral blood of sheep experimentally infected with  
tick-borne fever.  
Research in Veterinary Communications, 1983, 51 : 40-43.
- 102 - Z. WOLDEHIWET.  
The effects of tick-borne fever on some functions of polymorphonuclear cells of sheep.  
Journal of Comparative Pathology, 1987, 97 : 481-485.
- 103 - Z. WOLDEHIWET.  
Tick-borne fever : a review.  
Research in Veterinary Communications, 1983, 6 : 163-175.
- 104 - Z. WOLDEHIWET, G.R. SCOTT.  
Corticosteroid therapy of tick-borne fever.  
The Veterinary Record, 1982, 110 : 151-152.



- 105 - Z. WOLDEHIWET, G.R. SCOTT.  
Stages in the development of *Cytoecetes phagocytophila*, the causative agent of tick-borne fever.  
Journal of Comparative Pathology, 1982, 92 : 469-474.
- 106 - Z. WOLDEHIWET, G.R. SCOTT.  
Tick-borne fever : leucocyte migration inhibition.  
Veterinary Microbiology, 1982, 7 : 437-445.
- 107- Z. WOLDEHIWET, G.R. SCOTT.  
Immunological studies on tick-borne fever in sheep.  
Journal of Comparative Patology., 1982, 92 : 457-467.
- 108 - Z. WOLDEHIWET, G.R. SCOTT.  
In vitro propagation of *Cytoecetes phagocytophila*, the causative agent of tick-borne fever.  
Veterinary Microbiology, 1982, 7 : 127-133.
- 109 - Z. WOLDEHIWET, S.D. CARTER, C. DARE.  
Purification of *Cytoecetes phagocytophila*, the causative agent of tick-borne fever, from infected ovine blood.  
Journal of Comparative Pathology, 1991, 105 : 431-438.
- 110 - Z. WOLDEHIWET, G.R.SCOTT.  
Differentiation of strains of *Cytoecetes phagocytophila*, the causative agent of tick-borne fever, by complement fixation.  
Journal of Comparative Pathology, 1982, 92 : 475-478.
- 111 - Z. WOLDEHIWET, I.H. GOKCE.  
Recent developments in the pathogenesis of tick-borne fever.  
*Rickettsiae* and rickettsial diseases at the turn of the third millenium : 412-422.
- 112 - Z. WOLDEHIWET, M. RISTIC.  
Rickettsial and chlamydial diseases of domestic animals.  
Pergamon Press, 1993.



